

**Untersuchungen
zur Reduzierung des Sporengehaltes
der Anlieferungsmilch bei Anwendung
eines Euterhygieneprogrammes**

Thomas Kufner

Disbui. München

1989



Aus dem Institut für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs
(Lehrstuhl : Prof. Dr. G. Terplan)
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Untersuchungen zur Reduzierung des
Sporengehaltes der Anlieferungsmilch bei Anwendung
eines Euterhygieneprogrammes

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Thomas K u f n e r

aus

Marktoberdorf

München 1989

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Univ.-Prof. Dr. Dr.h.c. G. Terplan

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. B. Gedek

Tag der Promotion: 24. Februar 1989

1.	Einleitung	1
2.	Schrifttum	2
2.1	Sporenbildner in der Anlieferungsmilch	2
2.1.1	Allgemeines	2
2.1.2	Vorkommen und Bedeutung von aeroben Sporenbildnern in Rohmilch	4
2.1.2.1	B. cereus als Ursache des Verderbs von Milch und Milchprodukten	7
2.1.2.2	B. cereus als Mastitiserreger	8
2.1.2.3	B. cereus als Erreger von Lebensmittelintoxikationen	9
2.1.3	Bedeutung und Vorkommen von anaeroben Sporenbildnern	10
2.2	Verhinderung sporenbedingter Schäden in Milchprodukten	13
2.2.1	Verhinderung sporenbedingter Schäden im Verarbeitungsbereich	14
2.2.1.1	Nitratzusatz zur Kesselmilch	14
2.2.1.2	Lysozymzusatz zur Kesselmilch	15
2.2.1.3	Einsatz von Entkeimungszentrifugen	15
2.2.2	Verhinderung sporenbedingter Schäden im Erzeugerbereich	16
3.	Eigene Untersuchungen	23
3.1	Auswirkung der Zitzendesinfektion vor dem Melken auf die bakteriologische Beschaffenheit der Milch in einem Modellversuch	23
3.1.1	Material und Methodik	23
3.1.1.1	Herkunft der Proben und Probennahme	23
3.1.1.2	Bakteriologische Untersuchungen	24

3.2	Auswirkung des Euterhygieneprogrammes auf die bakteriologische Beschaffenheit der Milch unter Praxisbedingungen	27
3.2.1	Material und Methodik	27
3.2.1.1	Auswahl und Struktur der Versuchsbetriebe	27
3.2.1.2	Durchführung des Euterhygieneprogramms	28
3.2.1.3	Bakteriologische Untersuchungen	29
3.3	Ergebnisse	30
3.3.1	Ergebnisse des Modellversuchs	30
3.3.2	Auswirkung des Euterhygieneprogrammes auf den Sporengehalt der Rohmilch unter Praxisbedingungen	36
4.	Besprechung der Ergebnisse und Diskussion	48
5.	Zusammenfassung	58
6.	Summary	60
7.	Literaturverzeichnis	62

1. Einleitung

Anaerobe Sporenbildner in der Anlieferungsmilch können bei der Verarbeitung der Milch in der Käserei zu Fehlern im Endprodukt Anlaß geben. So sind z.B. laktatvergärende Clostridien, speziell Clostridium (C.) tyrobutyricum, Ursache der sogenannten Spätblähung. Bei diesen Keimen handelt es sich um Buttersäurebildner, die in einem relativ späten Reifungsstadium der Käse Laktat zu Buttersäure, Kohlendioxid und Wasserstoff abbauen. Hierbei kommt es sowohl zu einer Aufblähung der Käse, als auch zu Geruchsabweichungen. Um sporenbedingten Fehlern vorzubeugen, erlaubt der Gesetzgeber bei Schnittkäse einen Nitrat-, bei Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse einen Lysozymzusatz zur Kesselmilch (Käseverordnung vom 14. April 1986). Seitdem bekannt ist, daß bei Silagefütterung der Gehalt an C. tyrobutyricum-Sporen ansteigt, wurde in Emmertalerkäsereigebieten versucht, durch ein Siloverbot die Fütterung von Silage zu verhindern. Da ein Nitrat- oder Lysozymzusatz zu Kesselmilch aus gesundheitlichen bzw. technologischen Erwägungen nicht wünschenswert ist, und das Siloverbot immer weniger beachtet wird, erscheinen Hygienemaßnahmen im Erzeugerbereich sinnvoll.

Der Tiergesundheitsdienst Bayern empfiehlt den Milcherzeugern im Rahmen der Mastitisprophylaxe ein Euterhygieneprogramm, bestehend aus Hygienemaßnahmen allgemeiner Art und der regelmäßigen Reinigung und Desinfektion der Zitzen sowie ihrer Desinfektion nach dem Melken (KLEINSCHROTH und DENEKE, 1987). In der vorliegenden Arbeit sollte geprüft werden, ob und inwieweit bei Durchführung eines solchen Euterhygieneprogramms auch der Gehalt an Sporen in der Anlieferungsmilch gesenkt wird.

2. Schrifttum

2.1 Sporenbildner in der Anlieferungsmilch

2.1.1 Allgemeines

Das Parenchym der Milchdrüse eutergesunder Tiere ist praktisch steril (HEIDRICH et al., 1964 a,b). Unter normalen Bedingungen kann das Gemelk jedoch nicht keimfrei ermolken werden, da eine Vielzahl exogener Faktoren eine unvermeidliche Keimbelastung der Milch bedingt. Die erste bakterielle Kontamination erfährt die Milch bereits während der Passage des von außen her regelmäßig verunreinigten Strichkanals. Die Größenordnung dieser Kontamination liegt nach OLSON (1962), STEINERT (1978) und WINTERER (1978) bei 100 bis 1000 Keimen pro ml. Eine weitere Keimbelastung der Milch wird verursacht durch (MROZEK, 1975):

- den Verschmutzungsgrad des Euters
- das Stallmilieu
- und den Reinheitsgrad der Melkgerätschaften

Die einzelnen Parameter haben auf die Höhe der bakteriellen Kontamination der Rohmilch etwa die in Tab. 1 zusammengefaßte Bedeutung.

Tabelle 1:

Ursachen der Keimbelastung von Rohmilch (nach KÄSTLI, 1963)

	Keime pro ml Milch
Passage des Strichkanals	100 - 1000
Stallluft	100 - 15000
Verschmutztes Euter	1500 - 15000
Euterinfektion	300 - 25000
Mangelnde Reinigung und Desinfektion der Melkmaschine	bis 500000
mangelnde Kühlung	bis 30 Mio

Einen wichtigen Bestandteil der Milchflora stellen neben den Rekontaminanten (siehe hierzu JAKSCH, 1983) die thermoduren Bakterien dar, die die üblichen Pasteurisierungstemperaturen überleben und in wärmebehandelter Milch noch nachgewiesen werden können. Zu diesen Keimen gehören nach STADHOUDERS et al. (1982) neben *Alcaligenes tolerans*, Enterokokken, Mikrokokken und Mikrobakterien die aeroben und anaeroben Sporenbildner.

Die vor allem im Bereich der Lebensmittelmikrobiologie gebräuchlichen Begriffen "aerobe" und "anaerobe Sporenbildner" haben keine taxonomische Funktion, sondern werden aus praktischen Erwägungen verwendet. Beide Gruppen umfassen endosporenbildende Bakterien, die sich unter anderem hinsichtlich ihrer Fähigkeit in Anwesenheit von Sauerstoff wachsen zu können, unterscheiden. Die aeroben bzw. fakultativ anaeroben Sporenbildner in Lebensmitteln repräsentieren im wesentlichen Vertreter des Genus *Bacillus*, die hauptsächlich anaerob wachsenden solche des Genus *Clostridium*. An-

dere Sporenbildner (siehe hierzu SNEATH, 1986) spielen zumindest in Milch und Milchprodukten keine Rolle.

Die Bedeutung der aeroben und anaeroben Sporen auf dem Lebensmittelsektor ist vielfältig und soll, soweit der Bereich der vorliegenden Arbeit betroffen ist, weiter unten besprochen werden. Entscheidend für viele Probleme im Zusammenhang mit Sporenbildnern ist in jedem Fall ihre Fähigkeit, unter bestimmten Bedingungen resistente Dauerformen bilden zu können, die viele der zur Haltbarmachung von Lebensmitteln eingesetzten Verfahren überstehen und nach dem Auskeimen Qualität, Haltbarkeit und in einigen Fällen auch die gesundheitliche Unbedenklichkeit des Lebensmittels negativ beeinflussen.

2.1.2 Vorkommen und Bedeutung von aeroben Sporenbildnern in Rohmilch

Als Hauptquellen für die Kontamination der Rohmilch mit aeroben Sporenbildnern kommen nach JAYNE-WILLIAMS und FRANKLIN (1960) Staub, Erde, Mist, Heu, Futter, Haut und Haarkleid der Tiere in Frage. Bei *Bacillus* (B.) *cereus* spielen außerdem ungenügend gereinigte und desinfizierte Melkgerätschaften eine wesentliche Rolle (LABOTS et al., 1965). Hierauf ist auch die Beobachtung zurückzuführen, daß sich *B. cereus*, anders als die übrigen aeroben Sporenbildner, im Sommer in höheren Zahlen als im Winter nachweisen läßt (BILLING und CUTHBERT, 1958; LABOTS et al., 1965). Während der Gehalt an aeroben Sporenbildnern, vor allem an *B. licheniformis*, im Winter während der Stallfütterung aufgrund der erhöhten Belastung mit Staub, Fäzes und Erde ansteigt, vermehrt sich *B. cereus* in den wärmeren Jahreszeiten auf den Gerätschaftsoberflächen, was eine stärkere Kontamination der Milch verursacht (STADHOU-

DERS, et al., 1982). Eine Zusammenstellung über das Vorkommen von *B. cereus* in Boden, Gras und Mist einerseits und gespülten Milchkannen andererseits findet sich in Tab. 2.

Tabelle 2:

Vorkommen von *Bacillus cereus* in verschiedenen Materialien (nach LABOTS et al., 1965)

B. cereus pro g Trockensubstanz bzw. pro Milchkanne	
Erdboden	$10^5 - 10^7$
Frisch geschnittenes Gras	$10^3 - 10^4$
Kuhdung	$10^2 - 10^7$
Milchkanne	$10^2 - 10^6$

Während *B. cereus* in Rohmilch selbst nur schlecht Sporen bilden kann, wird die Sporulation in den dünnen Milch-Wasser-Filmen unzureichend gereinigter Melkgerätschaften gefördert, so daß bei einer erneuten Füllung der Kannen eine Belastung des Inhalts mit hitze-resistenten Sporen erfolgt (DONOVAN, 1959). Für das spätere Verhalten der *B. cereus* Sporen in der Milch ist es nicht unwesentlich, woher die Dauerformen stammen. So stellten LABOTS und HUP (1964 a,b) und LABOTS et al. (1965) fest, daß in Boden, Mist, Heu und Silage Sporen vom rasch auskeimenden Typ, in der Milch bzw. auf den Gerätschaften dagegen Sporen vom langsam auskeimenden Typ dominierten. Während die rasch auskeimenden Sporen bereits durch die Kurzzeiterhitzung der Milch aktiviert werden, benötigen die langsam auskeimenden eine höhere Wärmebehandlung, z.B. die Hochoverhitzung, zur Aktivierung.



Unterschiede zwischen diesen Sporentypen bestehen auch hinsichtlich ihrer Hitzeresistenz und der Fähigkeit zur Sporulation, Eigenschaften, die bei den langsam auskeimenden Sporen stärker ausgeprägt sind. Dagegen scheinen die rasch auskeimenden Typen eine größere Bedeutung für den weiter unten besprochenen Milchfehler "bitty cream" zu haben. Die Bedingungen, die zum Auskeimen führen, sind noch nicht genau bekannt. Es wurde allerdings beobachtet, daß in Rohmilch, die im allgemeinen kein günstiges Medium für das Auskeimen von *B. cereus*-Sporen darstellt, nach einer Kurzzeiterhitzung (72°C, 15 sec) die Auskeimung gefördert wird. Möglicherweise ist dies auf die Bildung eines die Auskeimung fördernden Prinzips oder, wie GOLDBACH (1964) vermutet, auf die Ausschaltung eines Wachstumsheimmfaktors, zurückzuführen. Eventuell bestehen auch Beziehungen zum Gehalt der Milch an somatischen Zellen. Zur Aktivierung, also zur Initiierung der Auskeimung, ist allerdings eine Erhitzung bei höheren Temperaturen günstiger. Weitere Einzelheiten zu dieser Problematik finden sich bei DAVIES und WILKINSON (1973, 1974), WILKINSON und DAVIES (1973 a,b), DAVIES (1977) und STADHOUDERS et al. (1980).

Neben *B. cereus* kommen in Rohmilch noch einige andere aerobe Sporenbildner vor. In den Untersuchungen von STONE und ROWLANDS (1952), FRANKLIN et al. (1956), ABO-ELNAGA (1968), MARTIN (1974), WAES (1976) und JOHNSTON und BRUCE (1982) fanden sich besonders häufig *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. brevis* und *B. coagulans*. Insgesamt gesehen waren aerobe Sporenbildner zwar regelmäßig anzutreffen, ihre Keimzahlen allerdings im allgemeinen niedrig.

Erwähnenswert ist auch die Tatsache, daß aerobe Sporenbildner in Rohmilch, darunter auch *B. cereus*, häu-

fig psychrotrophe Eigenschaften besitzen, d.h. bei Kühlttemperaturen noch wachsen können (GROSSKOPF und HARPER, 1969, 1974). Allerdings scheint sich *B. cereus*, zumindest in pasteurisierter Milch, bei Temperaturen unter 6°C nicht mehr zu vermehren (LANGEVELT und CUPERUS, 1980). Neben psychrotrophen Stämmen von *Bacillus* spp. werden auch thermophile gefunden, darunter *B. stearothermophilus*, *B. subtilis* und *B. licheniformis* (JAYNE-WILLIAMS und FRANKLIN, 1960; MARTIN, 1981).

Die allgemeine Bedeutung der aeroben Sporenbildner für die Milchwirtschaft ist darin zu sehen, daß sie, wie oben bereits erwähnt, die Pasteurisierung überstehen und, auch aufgrund ihrer psychrotrophen Eigenschaften zur Minderung von Qualität und Haltbarkeit der Endprodukte beitragen können. Hierbei spielen vor allem proteolytische Vorgänge eine Rolle. Unter den aeroben Sporenbildnern zeigt *B. cereus* einige Besonderheiten, auf die im folgenden kurz eingegangen werden soll.

2.1.2.1 *B. cereus* als Ursache des Verderbs von Milch und Milchprodukten

B. cereus kann bei Milch und Milchprodukten einige typische Formen des Verderbs hervorrufen. Hierzu gehört vor allem ein bei pasteurisierter Milch auftretender Fehler, über den aus Großbritannien (STONE und ROWLANDS, 1952), Australien (BARKLEY und DELANY, 1980), den USA (OVERCAST und ATMARAM, 1974) und den Niederlanden (LABOTS und GALESLOOT, 1959) Berichte vorliegen. Entsprechend einer Definition des internationalen Milchwirtschaftsverbandes (IDF, 1983) handelt es sich dabei um eine Koagulation der Milch, die nicht mit einem unmittelbaren Anstieg des Säuregrades verbunden ist und zunächst meist durch kleine koagulierte Parti-

kel, die auf der Oberfläche der Milch treiben, sichtbar wird (zitiert nach BECKER und TERPLAN, 1987). Die Entstehung des Fehlers wird auf eine Lecithinaseaktivität von *B. cereus* zurückgeführt. Das Enzym soll an der Membran der Fettkügelchen angreifen und diese destabilisieren (STONE und ROWLANDS, 1952; STONE, 1952 a,b). Weitere durch *B. cereus* hervorgerufene Fehler traten bei sterilisierten Milchprodukten (HARPER et al., 1970) und Rührjoghurt (DRIESSEN und STADHOUDERS, 1980) auf.

2.1.2.2. *B. cereus* als Mastitiserreger

B. cereus hat eine gewisse Bedeutung als Erreger von Euterentzündungen. Im Vergleich zu den Kokken- oder Colimastitiden kommen diese zwar vergleichsweise selten vor, es wird aber immer wieder von sporadischen Erkrankungen oder Ausbrüchen durch diesen Keim berichtet. Beschreibungen von *B. cereus*-Mastitiden liegen unter anderem aus den USA (BROWN und SCHERER, 1957; JASPER et al., 1972), der BRD (TERPLAN, 1957; WEIDLICH, 1961; EWALD et al., 1985; GEDEK, 1986; HEER et al., 1987), der Schweiz (GLOOR, 1968), Kanada (PERRIN et al., 1976; SCHIEFER et al., 1976) und Großbritannien (JONES und TURNBULL, 1981) vor. Aus diesen Arbeiten ist zu ersehen, daß die Erkrankung eine akute hochgradige Euterentzündung darstellt, die mit schweren Allgemeinerscheinungen einhergeht (GLOOR, 1968), bisweilen auch einen leichteren Verlauf nimmt (JASPER et al., 1972). Auffällig ist ein wiederholt festgestellter Zusammenhang mit unsachgemäßen Behandlungsversuchen (z.B. BROWN und SCHERER, 1957; TERPLAN, 1957) bzw. der Verabreichung kontaminierter Arzneimittel (JASPER et al., 1972; PERRIN et al., 1976; SCHIEFER et al., 1976; siehe auch GEDEK, 1986). Der letztgenannte Übertragungsweg wurde besonders deutlich im

Fall von schweren, sich unmittelbar nach der Geburt entwickelnden Mastitiden, die 1985 bei Kühen in der BRD nach Behandlung mit einem kontaminierten Trockensteller aufgetreten waren (EWALD et al., 1985; GEDEK, 1986; HEER et al., 1987). Wahrscheinlich befinden sich, worauf bereits JONES und TURNBULL (1981) hinwiesen, die Sporen im Euter in einer Ruhephase und werden bei der Geburt und der einsetzenden Laktation aktiviert.

Als weitere Eintrittspforten für *B. cereus* sind Läsionen im Zitzenbereich anzusehen (BROWN und SCHERER, 1957), durch die der auf der Zitzenhaut häufig zu findende Erreger (BILLING und CUTHBERT, 1958) in die Milchdrüse einzudringen vermag.

2.1.2.3 *B. cereus* als Erreger von Lebensmittelintoxikationen

In den letzten Jahren haben sich Berichte über *B. cereus* als Erreger von Lebensmittelintoxikationen gehäuft (siehe hierzu die Übersichtsarbeiten von GOEPFERT et al., 1972; GILBERT und TAYLOR, 1976; GILBERT, 1979; HUTCHINSON und TAPLIN, 1979; GILBERT et al., 1981 und JOHNSON, 1984). Milch und Milchprodukte waren nur sehr selten in Erkrankungen verwickelt (VLAD und VLAD, 1972; SCHMITT et al., 1976; KRISTENSEN, 1981). Auch blieben epidemiologische Zusammenhänge in diesen Fällen weitgehend ungeklärt. Da allerdings der Keim zu den regelmäßig in Rohmilch anzutreffenden Sporenbildnern gehört und die Pasteurisierungstemperaturen übersteht, ist sein Vorkommen in Milchprodukten nicht auszuschließen. Untersuchungen von BECKER et al. (1984) haben gezeigt, daß z.B. Säuglings- und Kleinkindernahrung auf Milchbasis häufig mit *B. cereus* kontaminiert ist, wenn auch nur in geringen Zahlen, so daß im all-

gemeinen ein gesundheitliches Risiko für den Verbraucher nicht zu erwarten ist.

2.1.3 Bedeutung und Vorkommen von anaeroben Sporenbildnern

Clostridien sind, ebenso wie die oben besprochenen Bazillen, ubiquitär. Sie werden im Boden, in Abwässern, vermodernden Pflanzen, tierischen und pflanzlichen Produkten sowie im Intestinaltrakt von Wirbeltieren und Insekten gefunden (CATO et al., 1986). Von den 83 Spezies, die in Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (CATO et al., 1986) beschrieben werden, sind, soweit es den Lebensmittelsektor betrifft, einige Arten (*C. botulinum*, *C. perfringens*, eventuell auch *C. difficile*) als pathogen anzusehen. Andere gelten im Bereich der Milchwirtschaft als Verderbserreger. Dabei handelt es sich um *C. tyrobutyricum*, *C. butyricum*, *C. sporogenes* bei der Schnitt- und Hartkäse-
rei sowie *C. pasteurianum* und *C. bifermentans* bei der Schmelzkäseherstellung (HEILMEIER, 1985). *C. sporogenes* gilt als Erreger der "Weißfäule", die durch Eiweißabbau und einen damit verbundenen unangenehmen Geruch gekennzeichnet ist (HEILMEIER, 1985). *C. tyrobutyricum* ruft die sogenannte Spätblähung hervor. Der Verderbserreger wurde erstmals von KÖRSTEINER (1918) aus Emmentaler isoliert (KUTZNER, 1963) und 1935 durch VAN BEYNUM und PETTE von "*C. saccharobutyricum*" (*C. butyricum*) abgegrenzt und als *C. tyrobutyricum* bezeichnet. VAN BEYNUM und PETTE (1935) hielten *C. butyricum* als "ungefährlich für Hartkäse", was allerdings nach BUSSE und HEILMEIER (1986) nicht bewiesen ist. Nach diesen Autoren ist der pH-Wert des Käses von entscheidender Bedeutung dafür, welche potentiellen Spätblähungserreger wachsen können. Bei einem pH-Wert unter 5,6 vermehrt sich *C. tyrobutyricum* noch gut, doch gibt es auch andere, mit gleichen Stoffwechseleigen-

schaften (Laktatvergärung, siehe weiter unten) ausgestattete Clostridienarten, die sich in einem relativ sauren Milieu entwickeln können, aber möglicherweise gar nicht käseereischädlich sind. Dies hat Konsequenzen für die Nachweismethodik, auf die später noch eingegangen werden soll.

Bei den Erregern der Spätblähung handelt es sich um Buttersäurebildner (VAN BEYNUM und PETTE, 1935). Liegen ihre Sporen in der Kesselmilch vor (nach FRYER und HALLIGAN, 1976 genügt bereits eine Spore von *C. tyrobutyricum* pro ml Milch um Spätblähung hervorzurufen; ähnlich äußern sich auch KUTZNER, 1963 und KLUPSCH, 1985), so können nach etwa drei Monaten die Clostridien im Käse zu hohen Zahlen heranwachsen. Dabei vergären sie in Gegenwart von Acetat Laktat zu Buttersäure, Kohlendioxid und Wasserstoff. Die Käse werden gebläht und es kommt durch die Buttersäure zu einem unangenehmen Geruch. Es kann auch vorkommen, daß nur leicht "offene" Käse mit Geschmacksfehlern auftreten. Vermutlich wachsen die Clostridien in diesen Fällen nicht zur vollen Keimzahl heran (BUSSE und HEILMEIER, 1986). Als wesentliche auskeimungs- und wachstumsbeeinflussende Faktoren gelten pH-Wert, Salzgehalt, Feuchtigkeit, Begleitflora, Temperatur und Lagerungszeit sowie die Anwesenheit von Inhibitoren, z.B. Nitrat (HALLIGAN und FRYER, 1976).

Hauptquelle für eine Kontamination der Milch mit Sporen laktatvergärender Clostridien, speziell *C. tyrobutyricum*, sind Silage und Fäzes. Auf die Bedeutung der Silage weisen bereits Untersuchungen von ROSENBERGER (1951) hin, der neben proteolytisch aktiven Anaerobiern in Grassilage hauptsächlich laktatvergärende Arten fand. Die besondere Belastung gerade der Grassilage mit Clostridien, ist nach HOFNER (1987) auf die Art der Gewinnung des Ausgangsmaterials für die Silage

(starker Bodenkontakt, Aufreißen der Grasnarbe durch den Ladewagen) zurückzuführen. In den laktathaltigen Sickersäften finden anschließend die Laktatvergärer optimale Wachstumsbedingungen vor. In den Emmentaler-käsereigeieten wurde dementsprechend versucht, durch ein Siloverbot die Fütterung von Silage zu unterbinden.

Auch die Belastung der Fäzes erfolgt nach Untersuchungen von WAES (1987) letztendlich über die Silage. Die in ihr enthaltenen Sporen werden im Verdauungstrakt der Kuh konzentriert und gelangen aus den Fäzes bzw. dem Mist während des Melkens über die Zitzenhaut in die Milch. Dies erklärt auch die bei JORGENSEN (1981) referierten Beobachtungen, daß während der Stallhaltungsperiode der Gehalt an Sporen laktatvergärender Clostridien in Relation zum Gehalt in den Fäzes und zu dem im Futter ansteigt.

Insgesamt gesehen scheint die Kontamination der Milch mit *C. tyrobutyricum* über die Zitzenhaut die wesentlichste Quelle zu sein. In Melkgerätschaften oder der Stallluft sind nach JORGENSEN (1981) nur selten Sporen laktatvergärender Clostridien zu finden.

Der Nachweis Spätblähung hervorrufender Clostridien wird heute im allgemeinen über ihre Fähigkeit Laktat zu vergären geführt. Ältere Verfahren, wie etwa die Weinzirprobe oder die Sulfitreduktionsprobe sind nicht geeignet. Bei der Weinzirprobe wird die Fähigkeit zur Gasbildung aus Laktose und die Entwicklung von Buttersäuregeruch geprüft, die aber nur das wahrscheinlich käsereiunschädliche *C. butyricum* erfaßt, nicht aber *C. tyrobutyricum*, das keine Laktose vergärt. Auch der Sulfitreduktionstest verläuft bei *C. tyrobutyricum* negativ (HEILMEIER, 1985). Einen anderen Weg beschritten HALLIGAN und FRYER (1976) bzw. FRYER

und HALLIGAN (1976). Bei ihrem Verfahren (Einzelheiten sind dem Abschnitt Material und Methodik der vorliegende Arbeit zu entnehmen) werden zunächst in modifiziertem Reinforced Clostridial Medium mit Laktatzusatz und einem pH-Wert von 6,0, den nach HALLIGAN und FRYER (1976) *C. tyrobutyricum* bevorzugt, die Clostridien angereichert. Die Bestätigung erfolgt in einem als LATA bezeichneten Nährboden, der Laktat, Acetat, Thioglycolat und Ammoniumsulfat enthält (pH-Wert 6,1). Im letztgenannten Nährboden wird die Gasbildung aus Laktat durch *C. tyrobutyricum* nachgewiesen. Trotz des niedrigen pH-Wertes ist allerdings, worauf oben bereits hingewiesen wurde, das Wachstum einzelner Stämme von *C. butyricum* nicht auszuschließen (HEILMEIER, 1985; BUSSE und HEILMEIER, 1986).

2.2 Verhinderung sporenbedingter Schäden in Milchprodukten

Es gibt verschieden Möglichkeiten den Sporengehalt in der Anlieferungsmilch zu senken. In diesem Zusammenhang können Maßnahmen, die hygienische Situation bei der Erzeugung und Gewinnung der Milch zu verbessern, von solchen, mit deren Hilfe die Sporen wieder aus der Milch entfernt werden (Entkeimungszentrifugen) bzw. ihr Auskeimen und ihre Vermehrung verhindert wird (Nitrat- oder Lysozymzusatz) unterschieden werden. Zunächst sollen die letztgenannten Möglichkeiten besprochen werden.

2.2.1 Verhinderung sporenbedingter Schäden im Verarbeitungsbereich

2.2.1.1 Nitratzusatz zur Kesselmilch

Entsprechend Anlage 3 zur Käseverordnung (Neufassung vom 14. April 1986) Abs.2.b dürfen bei der Herstellung von Schnittkäse Natriumnitrat oder Kaliumnitrat (Salpeter) bis zu höchstens 0,15 g/l der Kesselmilch zugesetzt werden, sofern der Käse frühestens vier Wochen nach der Herstellung in den Verkehr gebracht wird. Durch Bakterien und die milcheigene Xanthinoxidase (GALESLOOT, 1960) wird das Nitrat im Bruch zu Nitrit reduziert, welches die Auskeimung der Sporen verhindert (GALESLOOT, 1961). Die Verwendung von Nitrat bei der Käseherstellung ist unter gesundheitlichen und technologischen Aspekten kritisiert worden. So soll es im Käse zur Bildung von Nitrosaminen kommen, die als krebserregend angesehen werden (WASSERFALL, 1976). Die Vermutung, daß Käsesorten, denen Nitrat zugesetzt wurde, höhere Nitrosaminkonzentrationen aufweisen als solche ohne Zusatz, konnten allerdings nicht bestätigt werden (KOHLE, 1982).

Als technologischer Nachteil wird von SILLEN (1986) die negative Wirkung des Nitrats auf die Entwicklung der zur Reifung des Käses führenden Mikroorganismen angesehen. Außerdem können Coliforme im Käse Nitrat und Nitrit in einem solchen Ausmaß abbauen, daß später die Auskeimung der Clostridiensporen nicht mehr verhindert wird (GALESLOOT und HASSING, 1983).

2.2.1.2 Lysozymzusatz zur Kesselmilch

Ebenfalls in Anlage 3 (Abs.2.f) zu der unter 2.3.1 genannten Käseverordnung wird der Zusatz von Lysozym zur Käsereimilch für die Herstellung von Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse zugelassen. Bei Lysozym handelt es sich um ein Enzym, das in vielen körpereigenen Sekreten sowie in Milch und Hühnereiklar vorkommt (WASSERFALL, 1976; KLOSTERMEYER, 1986). Das in der Käserei eingesetzte Lysozym stammt aus Eiklar und löst die Zellwände verschiedener grampositiver Bakterien auf. Aufgrund seines Angriffspunktes ist es als endo-Hydrolase anzusehen, die die Polysaccharidstränge des Mureins innerhalb der Kette spaltet (KLOSTERMEYER, 1986). Bei *C. tyrobutyricum* werden durch 500 E Lysozym/ml Kesselmilch (WASSERFALL, 1976) in 24 h 99% der ruhenden vegetativen Zellen abgetötet. Ruhende Sporen werden dagegen nicht angegriffen, allerdings wird die Auskeimung in stoffwechselaktive vegetative Formen verhindert. Auch wachsende Zellen erfahren eine starke Hemmung (TEUBER, 1986).

Als Nachteil des Lysozymzusatzes ist eine Beeinflussung der Starterkulturen anzusehen, die auftritt, wenn Lysozymkonzentrationen von 1000 E/ml Kesselmilch verwendet werden (Wasserfall, 1978). Zu geringgradigen Verzögerungen im Säuerungsverlauf kann es allerdings auch bei niedrigeren Konzentrationen kommen.

2.2.1.3 Einsatz von Entkeimungszentrifugen

Das Prinzip der Entkeimungszentrifugation (Bactofugation) beruht darauf, daß Mikroorganismen, insbesondere auch Sporen, eine höhere Dichte aufweisen, als die sie umgebende Milch (SILLEN 1986). Nach LEMBKE et al. (1984) beträgt die spezifische Dichte der Sporen 1,32

g/cm³, die der Milch 1,03 g/cm³. Durch das Zentrifugieren allein kann allerdings die Milch nicht völlig von Sporen befreit werden. So untersuchten KRUSCH und PROKOPEK (1986) Milch mit Sporengehalten zwischen 7 und 250/ml nach der Zentrifugation. Bei einem angenommenen Mittelwert von 50 Sporen/ml verblieben immer noch 2500 im Liter, zu viele, um damit ohne weitere Maßnahmen jeden Käse produzieren zu können. Nach STADHOUDERS et al. (1985) soll unter Praxisbedingungen die Reduktionsrate sogar nur 65-80% betragen. WASSERFALL (1976) geht davon aus, daß eine Bactofugation zur Eliminierung der Sporen nur dann ausreicht, wenn die Milch von guter Qualität ist, d.h. also in diesem Zusammenhang nur wenige Sporen von *C. tyrobutyricum* enthält. Entscheidend ist somit die Gesamtheit der Hygienemaßnahmen, die auf der Ebene der Erzeugung und Gewinnung der Milch aufgewendet wird.

2.2.2 Verhinderung sporenbedingter Schäden im Erzeugerbereich

Die Gewinnung von Milch hygienisch einwandfreier Qualität und die Aufrechterhaltung der Eutergesundheit setzt einen Komplex von Maßnahmen allgemeiner und spezieller Art voraus. Zu den mehr allgemeinen Maßnahmen gehören vor allem solche, die die Stallhygiene und Melkmaschinenfunktion betreffen (Angaben hierzu finden sich z.B. bei KIELWEIN, 1966; TERPLAN und WIESNER, 1971; TOLLE und WHITTLESTONE, 1976; O'SHEA, 1985; KLEINSCHROTH et al., 1985; GEDEK et al., 1987; KLEINSCHROTH und DENEKE, 1987). Als Maßnahmen spezieller Art am Tier selbst können unter anderem die Reinigung bzw. Desinfektion von Euter und Zitze vor und /oder nach dem Melken angesehen werden.

Die Notwendigkeit zur Reinigung des Euters ergibt sich aus § 17,1 der Ersten Verordnung zur Ausführung des Milchgesetzes (1. AVO), wonach "vor dem Melken ... das Euter und seine Umgebung sorgfältig zu reinigen" sind. Ähnliches schreibt auch der neueste Entwurf (Stand 06.10.88) zur Verordnung über Hygiene- und Qualitätsanforderungen an die Gewinnung, die Behandlung und das Inverkehrbringen von Milch (Milchverordnung), die ab 1. Jan. 1989 unter anderem die 1. AVO ersetzen soll, vor. In Anlage 3 heißt es dort unter 2.: "Das Euter von Kühen, von denen Milch als Lebensmittel gewonnen wird, muß zu Beginn des Melkens sauber sein." Darüber, wie diese Reinigung auszusehen hat, finden sich in beiden Rechtsvorschriften keine Angaben. Grundsätzlich sind folgende Verfahren üblich (JORGENSEN, 1981):

A) Trockene Reinigung mit einem Einmalpapier- oder Polyestertuch

B) Naßreinigung mit folgenden Möglichkeiten:

a) Waschen des Euters mit lauwarmem Wasser aus einem Schlauch oder einem automatischen, in den Melkstand integrierten System. Ein Desinfektionsmittel kann dem Wasser zugefügt werden. Zitzen und Euter können mit Einmalpapiertüchern getrocknet werden. Das System kann nur in Melkständen oder ähnlichem, nicht aber in Ställen eingesetzt werden.

b) Reinigung mit einem Einmalpapier- oder Polyester-
estertuch, das in eine lauwarne Desinfektions-
mittellösung getaucht wurde.

c) Reinigung mit einem in lauwarne Desinfektions-
mittellösung getauchten mehrmals zu benutzenden
Baumwoll- oder Polyestertuch, das nur für eine
festgelegte Zahl von Tieren verwendet wird.

- d) Reinigung mit Baumwoll- oder Polyestertüchern, die in lauwarme Desinfektionsmittellösung getaucht wurden. Für jedes Tier ist ein eigenes Tuch in Gebrauch. Alle Tücher werden nach dem Melken gemeinsam gewaschen und bis zum nächsten Melken in Desinfektionsmittel aufwahrt.

Die trockene Reinigung des Euters ist im Hinblick auf eine Verminderung des Keimgehaltes der Rohmilch weniger zu empfehlen (KIELWEIN, 1960; JORGENSEN, 1981). In erster Linie werden oberflächliche Schmutzpartikel entfernt, eine gründliche Reinigung zumindest stärker verschmutzter Zitzen ist nicht möglich. Die trockene Reinigung ist jedoch schneller und einfacher durchzuführen, als eine nasse Behandlung des Euters. Bei der nassen Reinigung muß unterschieden werden zwischen dem Waschen der Zitzen und der Feuchtreinigung. Ein Waschen des Euters mit Wasser mit einem Euterlappen, der für mehrere Kühe verwendet wird, ist aus hygienischer Sicht grundsätzlich abzulehnen (DENEKE, 1972; DENEKE und KLEINSCHROTH, 1976; GEDEK et al., 1987). Falls die Zitzen mit klarem Wasser gewaschen werden, müssen sie anschließend mit einem Einmalpapiertuch abgetrocknet werden, da das von nassen Zitzen abtropfende, stark mit Bakterien verunreinigte Waschwasser, beim Melken in die Milch gelangt (McKINNON et al., 1983; GALTON et al., 1984). Ist dies nicht möglich, so ist eine trockene Reinigung vorzuziehen.

Eine nur oberflächliche feuchte Reinigung ist nicht zu empfehlen, da diese das Ablösen von angetrockneten Schmutzresten begünstigt, sie aber nicht beseitigt (RICHARD, 1978). Die feuchte Reinigung der Zitzen mit einem Einmalpapiertuch für jede Kuh, das in eine geeignete Desinfektionsmittellösung getaucht wurde, ist aus hygienischer Sicht günstiger, als die Verwendung eines Einmaltuches, das für mehrere Tiere verwendet

wird, da keine Keimverschleppung von Kuh zu Kuh stattfindet. Die Verwendung von Baumwolltüchern, die in Desinfektionsmittellösung liegen, wobei für jede Kuh ein eigenes Tuch verwendet wird, kann aus hygienischer Sicht ebenfalls empfohlen werden, ist aber wegen des Aufwandes des anschließend nötigen Waschens und Trocknens der Tücher kaum praktikabel.

Feuchtreinigung und Desinfektion der Zitzen mit einem Einmalpapiertuch für jede Kuh wird heute milcherzeugenden Betrieben als die aus hygienischer und arbeitstechnischer Sicht günstigste Methode des Euterreinigens empfohlen, (RABOLD et al., 1983; KLEINSCHROTH und DENEKE, 1987) Die Feuchtreinigung des Euters mit einem geeigneten Desinfektionsmittel sollte dabei folgenden Anforderungen gerecht werden:

- Reduzierung der Keimbelastung der Milch und der Keimverschleppung von Kuh zu Kuh;
- Entfernung aller sichtbaren Schmutzpartikel von den Zitzen und der Zitzenbasis;
- Verhinderung von Zitzenirritationen oder anderen nachteiligen Effekten (Hautunverträglichkeit);
- keine zu hohen Kosten;
- kein zu hoher Aufwand bei der routinemäßigen Anwendung;
- möglichst geringe Rückstände des Desinfektionsmittels.

Als Desinfektionsmittel stehen in erster Linie jod- und chlorhaltige Lösungen zur Verfügung. Verwendung finden vor allem Jodophore, Hypochlorit, chloramin-

und chlorhaltige Lösungen, sowie quaternäre Ammoniumverbindungen, die aber weniger gebräuchlich sind. Da diese Präparate als Hemmstoffe in der Milch wirken können, stellt die Rückstandsproblematik einen wichtigen Aspekt für die Tauglichkeit als Zitzendesinfektionsmittel dar. Untersuchungen haben ergeben, daß bei Verwendung der zugelassenen Desinfektionslösungen bei ordnungsgemäßer Anwendung keine relevanten Rückstände in der Milch und an der Zitze meßbar sind (siehe hierzu TERPLAN und WIESNER, 1976; TERPLAN et al., 1975; GALTON et al., 1984; KLEINSCHROTH und DENEKE, 1987).

Durch die Zitzendesinfektion vor dem Melken wird in erster Linie die Keimbelastung der Milch vermindert, da die Zitzenoberfläche regelmäßig mit "Schmutzkeimen" verunreinigt ist (SCHÖNBERG, 1951; KIELWEIN, 1966; JORGENSEN, 1981; McKINNON et al., 1983). GALTON et al. (1982, 1984) ermittelten die geringsten Keimgehalte in der Rohmilch, wenn die Zitzen und das Euter vor dem Ansetzen der Melkmaschine weitestgehend trocken sind, was dadurch erreicht werden kann, daß die Zitzen nach der nassen Reinigung mit einem Einmaltapiertuch abgetrocknet werden. Neben der apathogenen Schmutzflora werden natürlich auch die pathogenen Euterkeime durch die Desinfektion vor dem Melken an der Zitzenhaut vermindert. Der bedeutende Effekt ist dabei die Beeinflussung der Neuinfektionsrate. Neuinfektionen können auftreten, wenn pathogene Mikroorganismen, die sich an der Zitzenoberfläche befinden, den Strichkanal durchdringen und sich in der Milchdrüse vermehren (SHELDRAKE und HOARE 1982).

Die Bedeutung der Desinfektion im Hinblick auf die Beseitigung der Sporenbildner an den Zitzen ist bisher noch wenig untersucht. Die Zitzenoberfläche soll nach McKINNON et al. (1983) eine große Anzahl von Bacillus-

Sporen beherbergen, die beim Melken in die Milch gelangen können. JORGENSEN (1981) ist der Ansicht, daß die in Rohmilch enthaltenen Sporen laktatvergärender Clostridien ausschließlich von den verunreinigten Zitzen herrühren. Nach seiner Ansicht stellen Fäzes die Hauptquelle für Sporen laktatvergärender Clostridien dar, die dann über die Zitzenhaut in die Milch gelangen. Er folgert daraus, daß aus einer gründlichen Reinigung und Desinfektion des Euters zwangsläufig geringere Sporenzahlen in der Sammelmilch resultieren.

Neben der Reinigung und Desinfektion der Zitzen vor dem Melken ist heute auch das Eintauchen der Zitzen nach dem Melken in eine geeignete Desinfektionslösung gebräuchlich. Für diese "Nachdesinfektion", die allgemein als "teat dipping" oder "Zitzentauchen" bezeichnet wird, finden in erster Linie jodhaltige Präparate, aber auch dieselben Desinfektionsmittel, die oben schon erwähnt wurden, Verwendung. Das "Zitzentauchen", das schon seit vielen Jahren milcherzeugenden Betrieben empfohlen wird, dient in erster Linie der Verhütung von Mastitiden zwischen den Melkzeiten, bzw. der Sanierung von mit pathogenen Euterkeimen belasteten Beständen (siehe hierzu .SEELEMANN et al., 1962; DENEKE, 1972; DENEKE und KLEINSCHROTH, 1976; BRUCK-MAYER, 1978; TERPLAN und GROVE, 1979; GEDEK et al., 1987).

Für die Verminderung des Keimgehaltes in der Rohmilch ist das "Zitzentauchen" nach dem Melken nur von untergeordneter Bedeutung, da die Zitzen bis zur nächsten Melkzeit je nach Stallhygiene wieder verschmutzt sein können. Es muß jedoch bedacht werden, daß das "Zitzentauchen" die Heilung von Zitzenwunden begünstigt. Diese beherbergen Bakterien, die beim Melken in die Milch gelangen (JORGENSEN, 1981).

Eine optimale Euterhygiene soll durch die Kombination Zitzendesinfektion vor dem Melken und "Zitzentauchen" nach dem Melken erreicht werden. Dadurch reduziert sich nicht nur der Keimgehalt der Rohmilch, sondern es wird auch die Häufigkeit von Euterinfektionen vermindert (SHELDRAKE und HOARE, 1980; KLEINSCHROTH et al., 1985; KLEINSCHROTH und DENEKE, 1987; GEDEK et al., 1987).

Zusammenfassend empfehlen KLEINSCHROTH und DENEKE (1987) vor allem für Herden, die Probleme mit der Zellzahl oder dem Keimgehalt der Milch haben folgendes Hygieneprogramm:

Vor dem Beginn des Melkens sollen die Standplätze entmistet und eventuell frisch eingestreut werden. Nach dem Vormelken ist das Euter mit einem Einwegpapiertuch feucht zu reinigen und zu desinfizieren (stark verschmutzte Euter sind vorher mit warmem Wasser zu waschen und abzutrocknen). Nach der Abnahme des Melkzeuges sind die Zitzen in eine dafür zugelassene Desinfektionsmittellösung zu tauchen. Sofort nach dem Melken soll die Melkanlage gereinigt und desinfiziert werden, wobei auf kritische Stellen wie Zitzengummis und Sammelstücke besonders geachtet werden sollte.

3. Eigene Untersuchungen

Die eigenen Untersuchungen gliedern sich in zwei Abschnitte. Im ersten Teil wurde in einem Modellversuch an zwei Tierkollektiven die Auswirkung der Zitzendesinfektion vor dem Melken auf die bakteriologische Beschaffenheit der Milch geprüft. Die im zweiten Teil durchgeführten Untersuchungen sollten klären, ob und inwieweit sich die Ergebnisse dieses Modellversuchs unter Praxisbedingungen bestätigen lassen.

3.1 Auswirkung der Zitzendesinfektion vor dem Melken auf die bakteriologische Beschaffenheit der Milch in einem Modellversuch

3.1.1 Material und Methodik

3.1.1.1 Herkunft der Proben und Probennahme

Die Probennahme wurde in einem Milchtierbetrieb im Betreuungsbereich des Tiergesundheitsdienstes (TGD) Bayern e.V. Region Schwaben-Süd (Allgäu) durchgeführt. Der Bestand hat 25 Kühe der Rasse Deutsches Braunvieh. Die Tiere stehen im Kurzstand auf Gummimatten; morgens und abends wird mit gehäckseltem Stroh eingestreut. Nach Angaben des TGD ist die Stallhygiene des Bestandes durchschnittlich, der Eutergesundheitszustand gut. Zwei Kollektive zu je fünf Kühen wurden für den Versuch ausgewählt (keine Tiere mit stark verschmutzten Eutern). Bei einem Kollektiv blieben die Zitzen unbehandelt, bei dem anderen wurde vor dem Melken eine gründliche Reinigung aller vier Zitzen mit einem in 0,5%ige Chloraminlösung getauchten, gut ausgewundenen Einmalpapiertuch durchgeführt. Die Lösung ist als "Desinficin CL" im Handel und wird von der Firma Fr. Buchrucker, A-4010 Linz hergestellt.

Alle vier Zitzen der behandelten und unbehandelten Tiere wurden anschließend mit jeweils 100 ml warmer, ultrahocherhitzer Milch mit einem keimfreien Einmalhandschuh abgewaschen. Diese insgesamt 10 Proben, sowie die verwendete UHT-Milch und eine Bestandsmilchprobe wurden gekühlt und innerhalb ein bis zwei Stunden nach der Entnahme im Labor des TGD Region Schwaben-Süd (Allgäu) bakteriologisch untersucht. Die Probennahme erfolgte insgesamt zehnmal im Zeitraum Juni bis August 1986.

3.1.1.2 Bakteriologische Untersuchungen

Bei den bakteriologischen Untersuchungen wurden die Gesamtkeimzahl, der Gehalt an aeroben Sporenbildnern (Sporenzahl) und das Vorkommen von *Bacillus* (B.) *cereus*, sowie der Gehalt an anaeroben sulfitreduzierenden, bzw. laktatvergärenden Sporenbildnern (Sporenzahl) berücksichtigt.

Die Bestimmung der Gesamtkeimzahl erfolgte mit dem Koch'schen Gußplattenverfahren in Anlehnung an die amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG (Untersuchung von Lebensmitteln. Bestimmung der Keimzahl in Milch und Milchprodukten. Referenzverfahren. L 01.00-5. Nov., 1983).

Um zu prüfen, ob sich Reste des Desinfektionsmittels in der Milch hemmend auf die Keimflora der Proben auswirken, wurde bei einigen Untersuchungen parallel zu dem in der oben genannten Methode vorgeschriebenen Nährboden (Plate-Count-Magermilch-Agar; verwendet wurde das Produkt Merck, 15338) ein Medium mit Neutralisatoren von Desinfektionsmitteln (Trypticase Soy Agar mit Lecithin und Polysorbat 80, Becton Dickinson, 11764) eingesetzt.

Zur Zählung aerober Sporenbildner (Sporenzahl) wurde das Probenmaterial vor dem Ansatz der Verdünnungsreihen 10 min bei 80°C erhitzt. Aus den dezimalen Verdünnungen, sowie aus der unverdünnten Milchprobe wurden jeweils 0,1 ml auf Blutagar (Blood-Agar Base, Oxoid, mit 7% aus drei mal gewaschenen in physiologischer Kochsalzlösung suspendierten Rindererythrozyten) ausgespatelt und bis zu 72 h bei 30°C bebrütet. Durch die Verwendung von Blutagar sollte aufgrund der für *B. cereus* charakteristischen Kolonieförmigkeit und Hämolyse die Belastung der Proben auch mit diesem Erreger abgeschätzt werden.

Der Nachweis von Sporen laktatvergärender Sporenbildner erfolgte durch Anreicherung in RCM-Laktat-Medium ("Modified-Reinforced-Clostridial-Medium") und anschließende Bestätigung mit dem LATA-Medium ("Lactate-acetate-thioglycollate-ammoniumsulfate medium"). Beide Nährböden wurden aus den einzelnen Bestandteilen selbst hergestellt und setzten sich folgendermaßen zusammen (FRYER und HALLIGAN, 1976).

Anreicherungsmedium (RCM-Laktat)

Trypton (Oxoid L 42)	10	g
Fleischextrakt (Oxoid L 29)	10	g
Hefeextrakt (Oxoid L 21)	3	g
Natriumlaktatlösung (50%ig) (Merck 6522)	28	ml
Natriumacetat x 3 H ₂ O (Merck 6265)	8	g
Stärke, löslich (Merck 1253)	1	g
L-Cystein HCL (Serva 17760)	0,5	g
Natriumchlorid (Merck 6406 E)	5	g
Agar-Agar (Oxoid L 11)	2	g
Aqua Dest.	1000	ml

Der Nährboden wurde 15 min bei 115°C autoklaviert und zu je 10 ml in sterile Röhrchen abgefüllt.

Nachweismedium (LATA)

Calciumlaktat	(Merck 2102)	20	g
Natriumacetat x 3 H ₂ O	(Merck 6265)	8	g
Natriumthioglycolat	(Merck 6691)	0,5	g
Ammoniumsulfat	(Merck 1217)	1	g
Magnesiumsulfat x 7 H ₂ O	(Merck 5886)	2	%
Mangan(II)-sulfat	(Merck 5963)	0,4	%
Eisen(II)-sulfat x 7 H ₂ O	(Merck 3965)	0,4	%
Agar-Agar	(Oxoid L 11)	2	g
Aqua dest.		1000	ml

Der Nährboden wurde 15 min bei 115°C autoklaviert und zu je 10 ml in sterile Röhrchen abgefüllt.

Die Untersuchung auf Sporen sulfitreduzierender Sporenbildner wurde in DRCM ("Differential Reinforced Clostridial Medium", Merck, 11699) durchgeführt.

Zum Nachweis sowohl der sulfitreduzierenden als auch der laktatvergärenden Sporen wurden zunächst dezimale Verdünnungen des Probenmaterials angelegt. Aus diesen Verdünnungen wurden Röhrchen mit RCM-Laktat-Medium bzw. DRCM-Medium im Most Probable Number-Verfahren (MPN) beschickt, im Wasserbad für 10 min auf 80°C erhitzt, sofort abgekühlt und mit 2%igem geschmolzenem Agar (ca. 47°C) überschichtet. Die Bebrütung erfolgte über fünf bis sieben Tage bei 37°C.

Die Ermittlung der wahrscheinlichsten Keimzahl (MPN) wurde bei DRCM anhand eventuell eingetretener Schwarzfärbung mit Hilfe einer MPN-Tabelle (nach DEMETER 1967) durchgeführt.

Zur Zählung laktatvergärender Sporen wurden aus denjenigen Röhrchen mit RCM-Laktat, die nach der Bebrütung Gasbildung zeigten, Röhrchen mit LATA-Medium beimpft

(1 ml), mit Agar überschichtet und bis zu fünf Tagen bei 37°C bebrütet. Die Ermittlung der wahrscheinlichsten Keimzahl erfolgte anhand der Gasbildung und mit Hilfe der oben genannten MPN-Tabelle.

3.2 Auswirkung des Euterhygieneprogrammes auf die bakteriologische Beschaffenheit der Milch unter Praxisbedingungen

3.2.1 Material und Methodik

3.2.1.1 Auswahl und Struktur der Versuchsbetriebe

Um die Auswirkung der Zitzendesinfektion auf den Sporengehalt der Anlieferungsmilch unter Praxisbedingungen zu untersuchen, wurden zehn allgäuer Milchviehbetriebe ausgesucht, die im Betreuungsbereich des TGD Bayern Region Schwaben-Süd (Allgäu) liegen. Die Euter-gesundheit der Kühe war gut, die Melkhygiene und die Funktionsfähigkeit der Melkanlage wurde von einem Techniker des TGD geprüft. Fünf dieser Betriebe waren angewiesen, die entsprechenden Hygienemaßnahmen vor und nach dem Melken durchzuführen, die anderen fünf Betriebe, die die Zitzen vollkommen unbehandelt ließen, dienten als Vergleich.

Ausschlaggebend für die Auswahl der Bestände waren eine annähernd gleiche Betriebsstruktur und das notwendige Vertrauen in die Landwirte hinsichtlich einer konsequenten Durchführung der Hygienemaßnahmen. Eine Zusammenstellung der Betriebe findet sich in Tab. 3.

Tabelle 3:

Struktur der zehn ausgewählten Bestände (1-5: Durchführung des Hygieneprogramms ; 6-10: keine Hygienemaßnahmen)

Betrieb Nr.	Anzahl d.Kühe	Stallform	Melkanlage	Winterfütterg.	Weidegang
1	28	KS	Eimer	Heu/Silage	Mai-Okt.
2	21	KS+E	Rohr	Heu/Silage	Aug.-Okt.
3	25	LS+E	Eimer	Heu/Silage	Mai-Okt.
4	20	KS+E	Eimer	Heu/Silage	Mai-Okt.
5	29	KS+E	Rohr	Heu/Silage	Mai-Okt.
6	25	KS+E	Rohr	Heu/Silage	Aug.-Okt.
7	20	KS+E	Rohr	Heu/Silage	Aug.-Okt.
8	26	KS+E	Rohr	Heu/Silage	Sept/Okt.
9	24	KS+E	Rohr	Heu/Silage	Aug.-Okt.
10	20	KS+E	Eimer	Heu/Silage	Sept/Okt.

Zeichenerklärung: KS: Kurzstand
 LS: Langstand
 E: Einstreu

3.2.1.2 Durchführung des Euterhygieneprogramms

Die Tierhalter der Betriebe 1 bis 5 waren angewiesen, während der Untersuchungszeiträume (Weidegang: September/Oktober 1986; Stallperiode: Februar bis April 1987) in ihrem Bestand das vom Tiergesundheitsdienst Bayern Milcherzeugern empfohlene Hygieneprogramm durchzuführen. Dieses Programm besteht im wesentlichen aus folgenden Schritten (KLEINSCHROTH und DENEKE, 1987):

- Vormelken

- Zitzen mit einem Einwegpapiertuch, das in eine geeignete Desinfektionsmittellösung getaucht wurde, gründlich reinigen

- Melkzeug anhängen

- Nach dem Melken sofortiges Zitzentauchen in eine geeignete Desinfektionsmittellösung

Als Desinfektionsmittel diente 0,5%ige "Desinficin CL" Lösung (siehe 3.1.1.1). Die Lösung wurde täglich neu hergestellt.

Die Vergleichsbetriebe waren angewiesen, keinerlei Behandlung an den Zitzen vorzunehmen.

3.2.1.3 Bakteriologische Untersuchungen

In den Versuchsbetrieben wurde während der Weideperiode (September/Oktobre 1986) und zur Zeit der Stallhaltung (Februar bis April 1987) zweimal wöchentlich je eine Bestandsmilchprobe mit einem sterilen Gefäß aus dem Milchtank entnommen und im Labor, wie unter 3.1.1.2 beschrieben, auf den Gehalt an aeroben und anaeroben Sporenbildnern (Sporenzahl) geprüft.

3.3 Ergebnisse

3.3.1 Ergebnisse des Modellversuchs

In den Tab. 4-6 findet sich eine Zusammenstellung der im Zeitraum 13.06.86 bis 15.07.86 in dem ausgewählten Betrieb geprüften bakteriologischen Parameter. Tab. 4 und 5 geben Gesamtkeimgehalt und die Zahl an aeroben Sporenbildnern (Sporenzahl) auf den desinfizierten und undesinfizierten Zitzen wieder. Es wurde jeweils der arithmetische Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung s ermittelt. Außerdem sind der Minimalwert $x_{\min}$ und der Maximalwert $x_{\max}$ angegeben. Für die statistischen Berechnungen wurden bei Werten unter der Nachweisgrenze (10/ml oder 3/10 ml) 9/ml bzw. 2/10 ml eingesetzt.

Tabelle 4:

Gesamtkeimzahl der unbehandelten bzw. desinfizierten Zitzenoberflächen vor dem Melken (die Werte beziehen sich auf 1 ml der zum Abspülen verwendeten UHT-Milch).

Ohne Zitzendesinfektion (x10 ³ /ml)						Mit Zitzendesinfektion (x10 ³ /ml)					
Datum	n	m	s	X _{min}	X _{max}	n	m	s	X _{min}	X _{max}	
13.06.86	5	3,9	3,1	1,0	8,5	5	2,7	1,3	1,2	4,0	
15.06.86	5	6,5	5,9	0,8	15,0	5	4,3	2,8	1,0	8,0	
18.06.86	5	5,2	3,6	1,5	10,0	5	2,7	2,3	0,8	6,0	
20.06.86	5	4,3	5,0	0,8	13,0	5	1,5	0,7	0,8	2,5	
26.06.86	5	7,2	6,6	1,1	18,0	5	1,7	1,4	0,5	4,0	
01.07.86	5	4,9	6,3	0,8	16,0	5	1,4	0,7	0,7	2,5	
04.07.86	5	9,4	7,7	1,6	20,0	5	2,4	2,0	0,9	6,0	
08.07.86	5	3,8	2,7	1,5	7,4	5	1,9	1,2	0,9	4,0	
11.07.86	5	5,1	3,9	1,5	10,0	5	1,5	1,2	0,5	3,5	
15.07.86	5	13,1	10,5	2,0	30,0	5	1,5	0,9	0,5	2,8	

n = Zahl der untersuchten Proben

m = $\bar{x}$ = Arithmetischer Mittelwert der Keimzahlen

s = Standardabweichung

X_{min}, X_{max} = Minimal-, Maximalwert

Nachweisgrenze 10 Keime/ml

Tabelle 5:

Zahl der aeroben Sporenbildner auf der Oberfläche un-
behandelter und vor dem Melken desinfizierter Zitzen-
oberflächen (die Werte beziehen sich auf 1 ml der zum
Abspülen verwendeten UHT-Milch).

Ohne Zitzendesinfektion						Mit Zitzendesinfektion				
Datum	n	m	S	X _{min}	X _{max}	n	m	S	X _{min}	X _{max}
13.06.86	5	100,0	46,4	30	150	5	15,8	6,8	0	25
15.06.86	5	105,0	29,2	70	150	5	10,4	2,6	0	15
18.06.86	5	68,0	49,3	25	150	5	14,6	9,0	0	30
20.06.86	5	122,0	48,7	50	180	5	12,6	6,9	0	25
26.06.86	5	98,0	41,0	40	150	5	14,6	5,5	0	20
01.07.86	5	103,0	53,8	40	170	5	11,4	4,8	0	20
04.07.86	5	121,0	64,5	40	200	5	11,4	4,8	0	20
08.07.86	5	81,0	36,1	25	120	5	13,6	6,8	0	25
11.07.86	5	95,0	42,1	35	150	5	9,2	0,4	0	10
15.07.86	5	117,0	34,6	85	160	5	13,4	9,3	0	30

Abk. siehe Tab. 4

Nachweisgrenze 10 Keime/ml

Wie aus Tab. 4 hervorgeht, betrug der Unterschied zwischen dem Gesamtkeimgehalt auf desinfizierten und nicht desinfizierten Zitzenoberflächen etwa zwei Zehnerpotenzen (m in der Spalte "ohne Zitzendesinfektion" ist mit dem Faktor 10^3 , m in der Spalte "mit Zitzendesinfektion" mit dem Faktor 10^3 zu multiplizieren). Allerdings sind die jeweiligen Standardabweichungen relativ groß. Die Werte der auf enthemmerhaltigen Nährböden ermittelten Gesamtkeimzahlen unterschieden sich von den in Tab. 4 wiedergegebenen nur unwesent-

lich, so daß auf eine tabellarische Darstellung verzichtet wurde.

Auch bei den aeroben Sporenbildnern war eine Reduzierung der Zahlen feststellbar (Tab. 5). Die Gehalte auf desinfizierten Zitzenoberflächen lagen im allgemeinen um mehr als den Faktor 10 unter denen auf unbehandelten.

B. cereus wurde qualitativ in jedem Untersuchungsgang bei mindestens einem, in der Regel aber bei zwei oder drei, der fünf Tiere nachgewiesen, wenn die Zitzen nicht desinfiziert worden waren. Nach Zitzendesinfektion konnte der Keim nur noch an vier Tagen (18. und 20.06., 01. und 15.07.88) von jeweils einem Tier isoliert werden.

In der zum Abspülen der Zitzen verwendeten UHT-Milch wurden weder vegetative Formen von Bakterien noch auskeimungsfähige Sporen nachgewiesen.

Zeitliche Abhängigkeiten in der Höhe der Gesamtkeim- bzw. Sporenzahlen lassen sich aus den in Tab. 4 und 5 dargestellten Werten nicht ableiten. Die Gehalte blieben während des gesamten Untersuchungszeitraumes auf einem Niveau.

Tabelle 6:

Zahl der sulfitreduzierenden und "laktatvergärenden" Clostridien ¹⁾ sowie die Gehalte an *C. tyrobutyricum* auf der Oberfläche von unbehandelten bzw. desinfizierten Zitzenoberflächen (die Werte beziehen sich auf 10 ml UHT-Milch).

		Ohne Zitzendesinfekt. n = 5				Mit Zitzendesinfekt. n = 5			
Datum		m	s	X _{min}	X _{max}	m	s	X _{min}	X _{max}
20.07.86	Sulf. Cl.	31,4	39,5	4	95	3,8	3,0	0	9
	Lakt. Cl.	6,0	5,4	4	15	2,4	0,9	0	4
	C.tyobu.	2,8	1,1	0	4	0	0	0	0
23.07.86	Sulf. Cl.	12,4	8,0	4	25	3,8	3,0	0	9
	Lakt. Cl.	5,0	5,7	0	15	2,4	0,9	0	4
	C.tyobu.	0	0	0	0	0	0	0	0
25.07.86	Sulf. Cl.	35,2	37,2	4	95	5,0	5,7	0	15
	Lakt. Cl.	6,0	5,4	0	15	2,4	0,9	0	4
	C.tyobu.	2,2	0,4	0	3	0	0	0	0
03.08.86	Sulf. Cl.	16,6	18,3	0	45	4,6	5,8	0	15
	Lakt. Cl.	3,8	3,0	0	9	2,2	0,4	0	3
	C.tyobu.	0	0	0	0	0	0	0	0
07.08.86	Sulf. Cl.	31,8	36,1	4	95	5,0	5,7	0	15
	Lakt. Cl.	5,4	3,2	0	9	2,2	0,4	0	3
	C.tyobu.	0	0	0	0	0	0	0	0
11.08.86	Sulf. Cl.	10,0	7,5	0	20	2,4	0,9	0	4
	Lakt. Cl.	2,8	1,1	0	4	2,0	0	0	0
	C.tyobu.	0	0	0	0	0	0	0	0
14.08.86	Sulf. Cl.	11,0	6,4	4	20	3,8	3,0	0	9
	Lakt. Cl.	6,2	5,3	0	15	3,0	2,2	0	7
	C.tyobu.	0	0	0	0	0	0	0	0
20.08.86	Sulf. Cl.	16,0	17,6	0	45	2,6	0,9	0	4
	Lakt. Cl.	5,0	5,7	0	15	0	0	0	0
	C.tyobu.	2,4	0,9	0	4	0	0	0	0

¹⁾ Gasbildung in RCM-Laktat-Medium

Zeichenerklärung:

Sulf.Cl.: sulfitreduzierende Clostridien

Lakt.Cl.: laktatvergärende Clostridien

C. tyrobu.: C. tyrobutyricum

Sonstige Abk. siehe Tab. 4

Nachweisgrenze 0,3 Keime/ml

In Tab. 6 findet sich eine Zusammenstellung der Gehalte der Zitzenoberflächen an sulfitreduzierenden und "laktatvergärenden" Clostridien. Als "laktatvergärende Clostridien" werden hier solche Keime bezeichnet, die in RCM-Laktat-Medium Gas bildeten. Als C. tyrobutyricum werden diejenigen dieser Gasbildner angesehen, die auch im LATA- Bestätigungsmedium zur Gasbildung fähig waren. Da die Keimzahlen sehr niedrig lagen, werden sie in Tab. 6 auf 10 ml bezogen. Wie aus der Tab. 6 ersichtlich, lagen die Zahlen der sulfitreduzierenden Clostridien höher, als die der mutmaßlich laktatvergärenden. Die Gehalte an desinfizierten und unbehandelten Zitzenoberflächen unterschieden sich etwa um den Faktor 8 (sulfitreduzierende Clostridien) bzw. 6 ("laktatvergärenden" Clostridien). Auch bei den Clostridienzahlen wurden hohe Standardabweichungen registriert. C. tyrobutyricum konnte an unbehandelten Zitzen nur vereinzelt, an desinfizierten nie nachgewiesen werden.

Die UHT-Milch erwies sich stets als frei von auskeimungsfähigen Clostridiensporen.

Zeitliche Abhängigkeiten hinsichtlich der Sporenzahlen konnten nicht festgestellt werden.

3.3.2 Auswirkung des Euterhygieneprogrammes auf den Sporen- gehalt der Rohmilch unter Praxisbedingungen

In den beiden Untersuchungszeiträumen (September/Okttober 1986 und Februar bis April 1987) konnten in den Bestandsmilchproben der zehn Betriebe während des Weidegangs bzw. der Stallperiode die in Tab. 7 und 8 wiedergegebenen Gehalte an aeroben Sporenbildnern ermittelt werden.

Tabelle 7:

Zahl der aeroben Sporenbildner in der Bestandsmilch der jeweils fünf Betriebe mit bzw. ohne Euterhygieneprogramm bei Weidegang (die Werte beziehen sich auf 1 ml Bestandsmilch).

Ohne Euterhygieneprogramm						Mit Euterhygieneprogramm				
Datum	n	m	s	X _{min}	X _{max}	n	m	s	X _{min}	X _{max}
02.09.86	5	52,0	31,1	20	100	5	11,8	4,6	0	20
04.09.86	5	31,8	29,7	0	80	5	9,4	0,5	0	10
12.09.86	5	72,0	37,0	20	110	5	12,4	5,0	0	20
16.09.86	5	88,0	39,6	50	150	5	12,4	7,1	0	25
18.09.86	5	50,8	36,4	0	100	5	9,4	0,5	0	10
22.09.86	5	56,0	33,8	20	100	5	9,4	0,5	0	10
25.09.86	5	72,0	40,9	10	120	5	10,4	2,6	0	15
30.09.86	5	65,8	48,6	0	130	5	9,4	0,5	0	10
03.10.86	5	54,0	36,5	10	100	5	10,4	2,6	0	15
13.10.86	5	83,0	55,4	30	170	5	9,4	0,5	0	10
18.10.86	5	75,8	58,0	0	160	5	11,6	4,7	0	20
20.10.86	5	90,0	50,0	10	140	5	12,6	4,8	0	20
24.10.86	5	81,0	30,1	45	120	5	13,6	6,8	0	25
27.10.86	5	65,0	31,2	25	100	5	14,6	7,4	0	25

Abk. siehe Tab. 4

Nachweisgrenze 10 Keime/ml

Tabelle 8:

Anzahl der aeroben Sporenbildner in der Bestandsmilch der jeweils fünf Betriebe mit bzw. ohne Euterhygieneprogramm bei Stallhaltung (die Werte beziehen sich auf 1 ml Bestandsmilch).

Ohne Euterhygieneprogramm						Mit Euterhygieneprogramm				
Datum	n	m	S	X _{min}	X _{max}	n	m	S	X _{min}	X _{max}
05.02.87	5	188,0	39,6	150	250	5	18,8	9,2	0	30
17.02.87	5	146,0	59,4	80	230	5	16,8	9,9	0	30
26.02.87	5	125,0	47,4	60	180	5	26,0	27,7	10	75
01.03.87	5	116,0	52,2	70	200	5	14,8	8,8	0	30
05.03.87	5	186,0	112,8	80	350	5	24,0	20,7	10	60
12.03.87	5	128,0	76,0	10	200	5	23,8	13,7	0	40
18.03.87	5	121,0	84,9	25	250	5	18,8	9,2	0	30
24.03.87	5	146,0	65,8	80	250	5	42,0	37,8	0	100
30.03.87	5	128,0	69,8	80	250	5	25,6	23,4	0	60
04.04.87	5	174,0	129,0	20	350	5	20,8	12,7	0	40
11.04.87	5	142,0	66,1	80	250	5	15,8	6,8	0	25
15.04.87	5	142,0	87,6	30	250	5	16,6	14,7	0	40
22.04.87	5	131,0	53,4	75	200	5	14,6	9,0	9	30
27.04.87	5	180,0	104,6	80	350	5	18,8	13,6	9	40

Abk. siehe Tab. 4

Nachweisgrenze: 10 Keime/ml

Wie aus Tab. 7 und 8 hervorgeht, waren sowohl zur Zeit des Weideganges (Tab. 7), als auch während der Stallperiode deutliche Unterschiede zwischen den Gehalten an aeroben Sporenbildnern mit und ohne Durchführung des Euterhygieneprogrammes zu registrieren. Berechnet

man aus den der Tab. 7 zugrunde liegenden Einzelwerten eines jeden Untersuchungsdatums den arithmetischen Mittelwert und die Standardabweichung, so ergibt sich ohne Euterhygieneprogramm: $m = 66,9$; $s = 40,2$ und mit Euterhygieneprogramm: $m = 11,2$; $s = 4,2$. Die entsprechenden Werte für die in Tab. 8 dargestellten Ergebnisse der Stallperiode lauten ohne Euterhygieneprogramm: $m = 146,6$; $s = 75,2$ und mit Euterhygieneprogramm: $m = 21,2$; $s = 17,3$. Unabhängig von der Anwendung des Euterhygieneprogrammes ließen sich in der Stallperiode höhere aerobe Sporenbildnerzahlen nachweisen als bei Weidegang.

Die Resultate der Untersuchungen auf anaerobe Sporenbildner sind den Tab. 9 und 10 zu entnehmen. Auch hier sind Unterschiede zwischen den Gehalten bei Weidegang und in der Stallperiode zu registrieren, die sich allerdings bei den sulfitreduzierenden Sporenbildnern einerseits und den "laktatvergärenden" Sporenbildnern bzw. *C. tyrobutyricum* andererseits gegensinnig verhalten. Während die erstgenannte Keimgruppe bei Weidegang in höheren Zahlen nachgewiesen wurde, lagen die Werte für "Laktatvergärer" und *C. tyrobutyricum* in der Stallperiode höher (Tab. 11). Unabhängig von diesen Unterschieden wirkte sich bei allen drei Keimgruppen die Durchführung des Euterhygieneprogrammes keimzahlvermindernd aus (Tab. 9 - 11). Auch hier ist allerdings auf die relativ starke Streuung der Werte um das Mittel hinzuweisen.

Tabelle 9:

Anzahl anaerober Sporenbildner in der Bestandsmilch der jeweils fünf Betriebe mit bzw. ohne Euterhygieneprogramm bei Weidegang (die Werte beziehen sich auf 10 ml Bestandsmilch).

		Ohne Euterhygieneprogramm (n = 5)				Mit Euterhygieneprogramm (n = 5)			
Datum		m	S	X _{min}	X _{max}	m	S	X _{min}	X _{max}
02.09.86	Sulf. Cl.	17,8	16,7	0	45	2,8	1,1	0	4
	Lakt. Cl.	3,6	2,1	0	7	3,4	3,1	0	9
	C.tyobu.	0	0	0	0	0	0	0	0
04.09.86	Sulf. Cl.	28,2	37,9	0	95	5,0	5,7	0	15
	Lakt. Cl.	3,8	3,0	0	9	2,0	0	0	2
	C.tyobu.	0	0	0	0	0	0	0	0
12.09.86	Sulf. Cl.	28,6	37,6	4	95	3,2	2,2	0	7
	Lakt. Cl.	6,8	5,3	0	15	2,4	0,9	0	4
	C.tyobu.	3,8	3,0	0	9	0	0	0	0
16.09.86	Sulf. Cl.	19,6	16,2	4	45	4,2	3,9	0	11
	Lakt. Cl.	6,2	3,1	0	9	2,8	1,1	0	4
	C.tyobu.	2,4	0,9	0	4	0	0	0	0
18.09.86	Sulf. Cl.	14,2	9,0	0	25	3,0	2,2	0	7
	Lakt. Cl.	5,2	2,8	0	9	2,4	0,9	0	4
	C.tyobu.	2,4	0,9	0	4	0	0	0	0
22.09.86	Sulf. Cl.	19,2	16,7	0	45	3,8	3,0	0	9
	Lakt. Cl.	6,8	5,3	0	15	2,6	0,9	0	4
	C.tyobu.	2,4	0,9	0	4	0	0	0	0
25.09.86	Sulf. Cl.	22,4	20,7	4	45	3,8	3,0	0	9
	Lakt. Cl.	6,4	5,1	0	15	2,8	1,1	0	4
	C.tyobu.	4,6	5,8	0	5	0	0	0	0
30.09.86	Sulf. Cl.	25,0	18,4	9	45	3,0	2,2	0	7
	Lakt. Cl.	5,4	5,5	0	15	2,6	0,9	0	4
	C.tyobu.	2,4	0,9	0	4	0	0	0	0
03.10.86	Sulf. Cl.	22,8	13,8	0	45	3,8	2,0	0	7
	Lakt. Cl.	5,8	2,8	0	9	2,0	0	0	2
	C.tyobu.	2,4	0,9	0	4	0	0	0	0
13.10.86	Sulf. Cl.	22,0	14,4	9	45	5,8	5,5	0	15
	Lakt. Cl.	6,4	5,6	0	15	3,4	2,2	0	7
	C.tyobu.	0	0	0	0	0	0	0	0
18.10.86	Sulf. Cl.	33,2	38,2	0	95	3,4	2,2	0	7
	Lakt. Cl.	5,8	5,2	0	15	2,6	0,9	0	4
	C.tyobu.	3,4	2,2	0	7	0	0	0	0
20.10.86	Sulf. Cl.	19,2	15,3	7	45	4,6	3,2	0	9
	Lakt. Cl.	5,0	5,7	0	15	2,4	0,9	0	4
	C.tyobu.	0	0	0	0	0	0	0	0
24.10.86	Sulf. Cl.	56,8	63,3	4	150	6,0	5,4	0	15
	Lakt. Cl.	7,8	4,5	4	15	4,2	2,9	0	9
	C.tyobu.	2,8	1,1	0	4	0	0	0	0
27.10.86	Sulf. Cl.	37,8	35,2	4	95	5,6	5,7	0	15
	Lakt. Cl.	9,6	5,5	0	15	2,4	0,9	0	4
	C.tyobu.	0	0	0	0	0	0	0	0

Abk. siehe Tab. 4+6

Tabelle 10:

Anzahl anaerober Sporenbildner in der Bestandsmilch der jeweils fünf Betriebe mit bzw. ohne Euterhygieneprogramm bei Stallhaltung. (die Werte beziehen sich auf 10 ml Bestandsmilch)

		Ohne Euterhygieneprogramm (n = 5)				Mit Euterhygieneprogramm (n = 5)			
Datum		M	S	Xmin	Xmax	M	S	Xmin	Xmax
05.02.87	Sulf. Cl.	9,6	7,6	0	20	3,4	2,2	0	7
	Lakt. Cl.	40,0	32,8	15	95	4,8	3,1	0	9
	C.tyrob.	13,2	8,5	0	25	2,8	1,1	0	4
17.02.87	Sulf. Cl.	15,8	5,8	9	25	4,8	3,1	0	9
	Lakt. Cl.	37,2	34,9	11	95	5,0	5,7	0	15
	C.tyrob.	13,8	5,9	4	20	2,4	0,9	0	4
26.02.87	Sulf. Cl.	15,2	7,5	7	25	4,2	2,9	0	9
	Lakt. Cl.	106,0	84,3	45	250	9,0	5,8	0	15
	C.tyrob.	34,4	37,4	0	95	4,4	3,4	0	9
01.03.87	Sulf. Cl.	21,8	14,2	9	45	4,8	3,1	0	9
	Lakt. Cl.	50,4	43,6	0	95	7,4	5,0	0	15
	C.tyrob.	14,2	9,0	0	25	3,0	2,2	0	7
05.03.87	Sulf. Cl.	16,2	10,0	4	25	4,2	2,9	0	9
	Lakt. Cl.	41,8	34,1	9	95	4,2	2,9	0	9
	C.tyrob.	7,4	5,5	0	15	0	0	0	0
12.03.87	Sulf. Cl.	10,6	9,4	0	25	5,4	5,5	0	15
	Lakt. Cl.	33,2	38,2	0	95	4,8	2,2	0	7
	C.tyrob.	8,6	6,1	0	15	3,0	2,2	0	7
18.03.87	Sulf. Cl.	10,6	7,0	0	20	4,2	2,9	0	9
	Lakt. Cl.	49,8	57,5	9	150	5,6	4,2	0	11
	C.tyrob.	17,8	18,0	0	45	2,4	0,9	0	4
24.03.87	Sulf. Cl.	12,8	10,5	0	25	4,0	2,7	0	7
	Lakt. Cl.	35,4	36,8	0	95	4,2	2,9	0	9
	C.tyrob.	7,4	7,6	0	20	0	0	0	0
30.03.87	Sulf. Cl.	10,6	7,0	0	20	3,8	2,0	0	7
	Lakt. Cl.	26,8	18,2	4	45	5,2	3,5	0	9
	C.tyrob.	9,6	8,0	0	20	2,4	0,9	0	4
04.04.87	Sulf. Cl.	14,2	9,0	0	25	2,8	1,1	0	4
	Lakt. Cl.	50,2	43,6	7	95	4,4	2,5	0	7
	C.tyrob.	12,8	10,5	0	25	0	0	0	0
11.04.87	Sulf. Cl.	11,6	5,7	7	20	3,4	2,2	0	7
	Lakt. Cl.	28,8	17,1	4	45	4,8	3,1	0	9
	C.tyrob.	10,6	9,7	0	25	3,0	2,2	0	7
15.04.87	Sulf. Cl.	11,6	8,8	0	25	3,6	2,1	0	7
	Lakt. Cl.	44,0	31,7	15	95	6,6	5,3	0	15
	C.tyrob.	10,8	8,3	0	20	2,4	0,9	0	4
22.04.87	Sulf. Cl.	12,8	10,5	0	25	4,8	3,1	0	9
	Lakt. Cl.	57,8	62,3	9	150	6,2	4,1	0	11
	C.tyrob.	11,6	8,8	0	25	2,8	1,1	0	4
27.04.87	Sulf. Cl.	11,6	8,8	0	25	5,4	5,5	0	15
	Lakt. Cl.	48,8	58,4	4	150	8,0	9,7	0	25
	C.tyrob.	13,2	18,6	0	45	3,0	2,2	0	7

Abk. siehe Tab. 4+6

Tabelle 11:

Mittelwerte und Standardabweichungen der anaeroben Sporenbildnern in den Bestandsmilchproben aus beiden Untersuchungszeiträumen (mit und ohne Durchführung des Euterhygieneprogrammes).

	Ohne Euterhygieneprogramm				Mit Euterhygieneprogramm			
	Weidegang		Stallperiode		Weidegang		Stallperiode	
	m	s	m	s	m	s	m	s
sulfitred. C.	26,1	28,3	13,1	8,7	4,1	3,5	4,2	2,9
laktatverg. C	6,0	4,3	46,4	45,4	2,7	1,5	5,7	4,5
C. tyrobu.	2,6	1,9	13,2	14,3	2,0	0	2,7	1,6

Abk. siehe Tab. 4+6

Eine tabellarische Gesamtübersicht zu den geprüften Parametern sowie entsprechende graphische Darstellungen finden sich in Tab. 12 und in den Abb.1 - 8.

Tabelle 12:

Gesamtübersicht über die Ergebnisse der Untersuchungen zur Auswirkung des Euterhygieneprogramms auf den Sporengehalt der Rohmilch

Typ der Sporen	Anzahl d. Sporen	Anzahl der Milchproben			
		Weidegang (Sept./Okt.)		Stallperiode (Febr./Apr.)	
		ohne E.	mit E.	ohne E.	mit E.
Aerobe Sporenb.	0- 10	8	57	1	33
	11- 20	4	10	1	13
	21- 30	6	3	2	14
	31- 50	12	-	-	5
	51-100	31	-	24	5
	101-200	9	-	30	-
	>200	-	-	12	-
sulfitred. Sporenb.	0- 5	11	53	14	53
	6-10	13	12	19	15
	11-15	13	5	16	2
	16-25	15	-	20	-
	26-45	12	-	1	-
	46-95	5	-	-	-
	>95	1	-	-	-
"laktatverg" Sporenb.	0- 5	42	67	6	40
	6-10	18	3	6	22
	11-15	10	-	10	7
	16-25	-	-	13	1
	26-45	-	-	18	-
	46-95	-	-	13	-
	>95	-	-	4	-
C. tyro- butyricum	0- 5	67	70	25	64
	6-10	2	-	10	6
	11-15	1	-	19	-
	16-25	-	-	12	-
	26-45	-	-	3	-
	46-95	-	-	1	-

E: Euterhygieneprogramm

Graphische Darstellung der Ergebnisse der Untersuchungen zur Auswirkung des Euterhygieneprogramms auf den Sporengehalt der Rohmilch

Abbildung 1:

Verteilung der Zahlen an aeroben Sporenbildnern während des Weidegangs

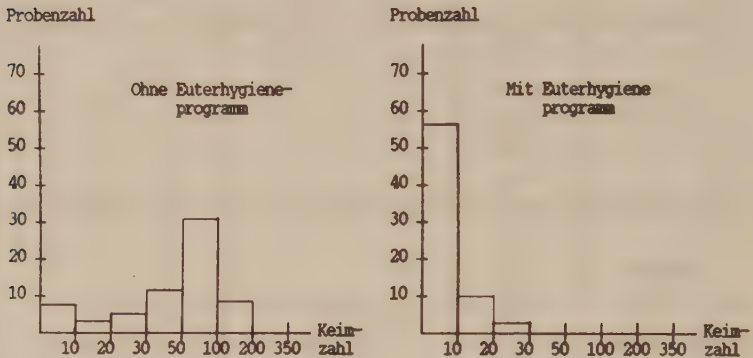


Abbildung 2:

Verteilung der Zahlen an aeroben Sporenbildnern während der Stallperiode

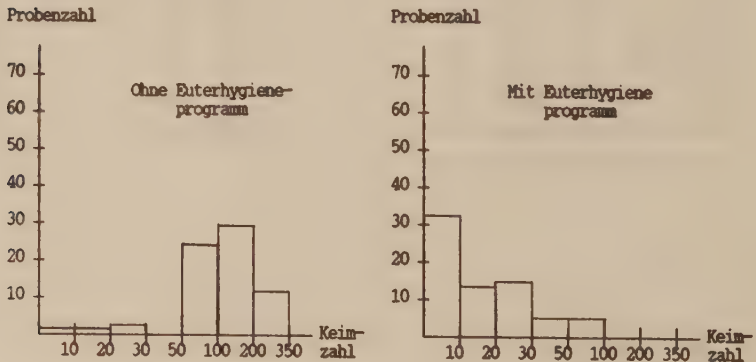


Abbildung 3:

Verteilung der Zahlen an sulfitreduzierenden Clostridien während des Weidegangs

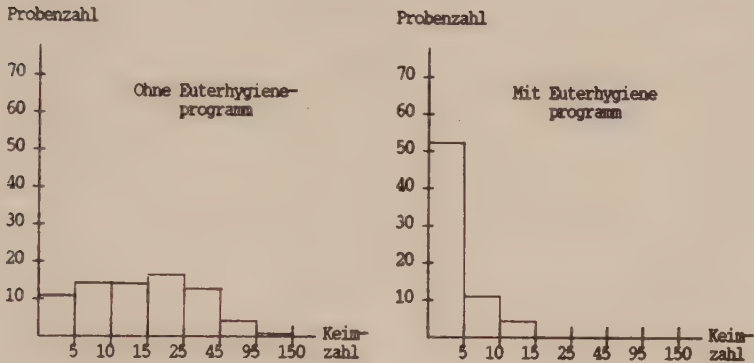


Abbildung 4:

Verteilung der Zahlen an sulfitreduzierenden Clostridien während der Stallhaltung

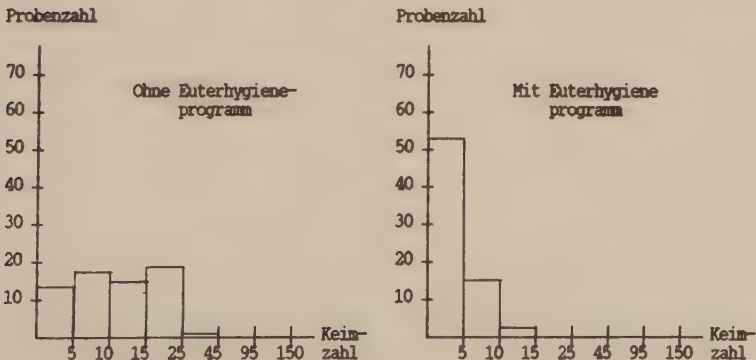


Abbildung 5:

Verteilung der Zahlen an "laktatvergärenden" Clostridien während des Weidegangs

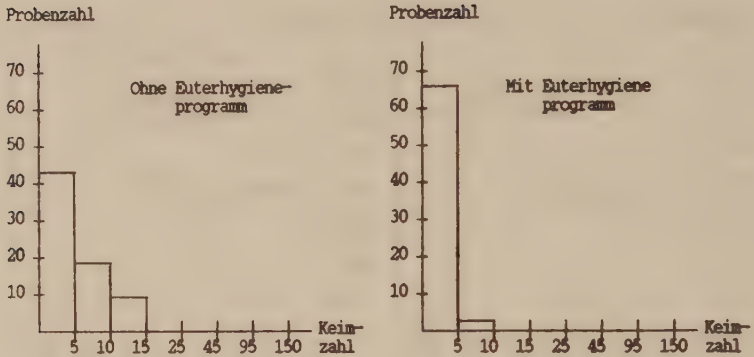


Abbildung 6:

Verteilung der Zahlen an "laktatvergärenden" Clostridien während der Stallperiode

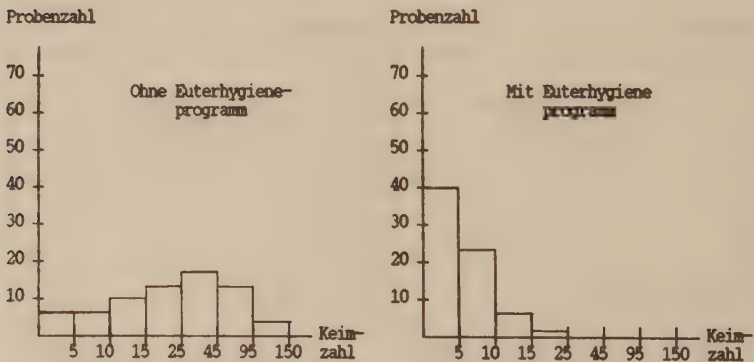


Abbildung 7:

Verteilung der Zahlen an *C. tyrobutyricum* während des Weidegangs

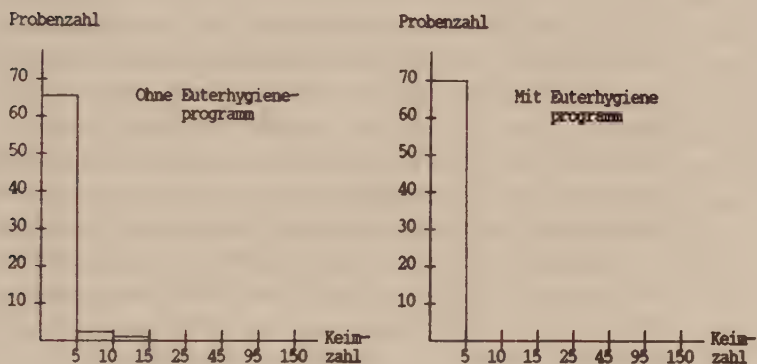
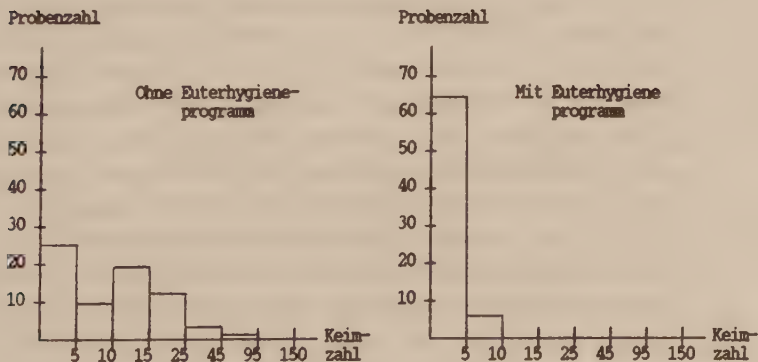


Abbildung 8:

Verteilung der Zahlen an *C. tyrobutyricum* während der Stallperiode



4. Besprechung der Ergebnisse und Diskussion

Die neue Richtlinie des Rates vom 5. August 1985 zur Regelung gesundheitlicher und tierseuchenrechtlicher Fragen im innergemeinschaftlichen Handel mit wärmebehandelter Milch (85/397/EWG), die noch in diesem Jahr in nationales Recht umgesetzt wird (Verordnung über Hygiene- und Qualitätsanforderungen an die Gewinnung, die Behandlung, und das Inverkehrbringen von Milch, Entwurf vom 06.10.88), stellt unter anderem verschärfte Anforderungen an die Gewinnung und Behandlung der Rohmilch im Erzeugerbetrieb. Diese erhöhten Anforderungen an Rohmilch beziehen sich zwar in erster Linie auf den Gehalt an somatischen Zellen und die Gesamtkeimzahl, hinsichtlich der Qualitätsbezahlung der Milch wird jedoch, z.B. in Italien, die Berücksichtigung des Clostridiengehaltes diskutiert.

Nach KLUPSCH (1985) werden dort etwa 40% der Milch zur Herstellung von Käsen mit Reifungszeiten von 3-24 Monaten verarbeitet. Die ökonomischen Verluste durch die Kontamination der Milch mit Sporenbildnern, speziell mit *Clostridium* (C.) *tyrobutyricum* und den durch diesen Keim hervorgerufenen, als Spätblähung bezeichneten Käsefehler, sollen ein ernstzunehmendes Problem darstellen. In der Bundesrepublik Deutschland versucht man durch Siloverbote in den Emmentalerkäsereigebieten und durch die Zulassung des Nitrat- oder Lysozymzusatzes zur Kesselmilch bei der Schnittkäseherstellung diese Verluste zu begrenzen. Da das Siloverbot nicht voll durchsetzbar ist und der Nitrat bzw. Lysozymzusatz unter wirtschaftlichen und technologischen, beim Nitrat auch aus gesundheitlichen Erwägungen, nicht als unproblematisch angesehen wird, erscheinen alternative Hygienemaßnahmen im Erzeugerbereich sinnvoll.

Der Tiergesundheitsdienst Bayern empfiehlt im Rahmen der Mastitisprophylaxe ein Euterhygieneprogramm, das neben allgemein die Stallhygiene betreffenden Maßnahmen eine feuchte Reinigung des Euters mit einem in Desinfektionsmittellösung getauchten und gut ausgewrungenen Einmaltuch vor dem Melken sowie eine Zitzen-desinfektion (Zitzentauchen) nach dem Melken vorsieht (KLEINSCHROTH und DENEKE, 1987). Die Reinigung und Desinfektion des Euters vor dem Melken und das Zitzentauchen nach dem Melken haben sich in der Mastitisprophylaxe (NEUMEISTER und KARIM, 1970 ; DENEKE, 1972; BRUCKMAYER, 1978), die Reinigung und Desinfektion des Euters vor dem Melken auch bei der Reduzierung des Keimgehaltes der Rohmilch positiv ausgewirkt (SCHÖNBERG, 1950; SEELEMANN, et al. 1962; MCKINNON, et al. 1983). Über die Beeinflussung des Sporengehaltes der Milch speziell an *C. tyrobutyricum* durch die Reinigung und Desinfektion des Euters vor dem Melken ist nur wenig bekannt. Aus den Untersuchungen von JORGENSEN (1981) geht allerdings hervor, daß als Hauptquelle für laktatvergärende Clostridien, zu denen auch *C. tyrobutyricum* gehört, die Zitzenoberfläche anzusehen ist, während in der Stallluft und den Melkgerätschaften diese Keime nur selten anzutreffen sind. Eine Verminderung der Sporenzahl laktatvergärender Clostridien durch die oben angesprochenen Maßnahmen wäre also denkbar.

Es war daher Aufgabe der vorliegenden Arbeit zu prüfen, ob und inwieweit bei Durchführung des Euterhygieneprogrammes, wie es der Tiergesundheitsdienst Bayern empfiehlt, in milcherzeugenden Betrieben der Gehalt der Rohmilch an aeroben und anaeroben Sporen reduziert werden kann. Zu diesem Zweck wurde zunächst in einem Modellversuch in einem allgäuer Betrieb an zwei Tierkollektiven die Auswirkung der Zitzenreinigung- und Desinfektion vor dem Melken auf die bakteriologische

Beschaffenheit der Milch (Gesamtkeimzahl, aerobe Sporenbildner einschließlich *Bacillus* (B.) *cereus*, sulfitreduzierende und laktatvergärende Sporenbildner) geprüft. Wie aus Tab. 4 hervorgeht, konnten zwischen den behandelten und unbehandelten Zitzen hinsichtlich der Höhe der Gesamtkeimzahlen Unterschiede von etwa zwei Zehnerpotenzen registriert werden. Über ebenfalls deutliche Verminderung des Keimgehaltes der Zitzenoberfläche berichten JORGENSEN (1981) und McKINNON et al., (1983). Die Zahlen an aeroben Sporenbildnern wurden durch die Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen zwar reduziert (Tab. 5), jedoch nicht in dem selben Ausmaß wie die Gesamtkeimzahl. Möglicherweise wäre die Abnahme der Zahl an aeroben Sporenbildnern auch allein mit der Reinigung der Zitze zu erreichen. McKINNON et al., (1983) konnten nämlich in ihren Experimenten keine weitere Reduzierung durch Zugabe von Hypochlorid zum Waschwasser erzielen.

In Tab. 6 werden die Gehalte der Zitzenoberfläche an verschiedenen anaeroben Sporenbildnern mit und ohne Zitzendesinfektion vor dem Melken gegenübergestellt. Bei den in der Tab. 6 als "laktatvergärende" Clostridien bezeichneten Keimen handelt es sich um solche, die im RCM-Laktat-Medium Gas bilden. Dabei ist allerdings nicht gesichert, daß die Keime Laktat als Substrat verwendet haben. Die Gasbildung kann nämlich auch auf den Abbau anderer Inhaltsstoffe des Nährbodens zurückzuführen sein (HALLIGAN und FRYER, 1976). Dies ist auch der Grund, warum verdächtiges Wachstum im RCM-Laktat-Medium im LATA-Medium mit Laktat als einzigem Nährstoff, aus dem Gas produziert werden kann, bestätigt werden muß (HALLIGAN und FRYER, 1976; FRYER und HALLIGAN, 1976). Allerdings besteht nach HEILMEIER (1985) auch im LATA-Medium die Möglichkeit, daß neben *C. tyrobutyricum* andere laktatvergärende Clostridien (*C. butyricum*) wachsen, deren Rolle bei

der Spätblähung noch nicht völlig klar ist (BUSSE und HEILMEIER, 1986). Darauf, daß Unterschiede zwischen der Zahl an Gasbildnern in RCM-Laktat-Medium und LATA-Medium bestehen weisen auch die Werte in Tab. 6 bzw. den Tab. 9 und 10 hin, nach denen die Gehalte an "laktatvergärenden Clostridien" (Gasbildung in RCM-Laktat-Medium) stets über denen von *C. tyrobutyricum* (Gasbildung in LATA-Medium) lagen. Unabhängig hiervon waren bei allen drei Gruppen anaerober Sporenbildner die Keimzahlen auf den gereinigten und desinfizierten Zitzen niedriger als auf unbehandelten. Die Kontamination mit *C. tyrobutyricum* war stets gering und lag im Bereich der Nachweisgrenze. Während, wie aus Tab. 6 ersichtlich, dieser Keim bei nicht gereinigten und desinfizierten Zitzen dreimal nachzuweisen war, verlief bei Durchführung der Reinigung und Desinfektion die Untersuchung stets negativ.

Ebenfalls nur sporadisch und an nicht gereinigten und desinfizierten Zitzen fand sich *B. cereus*, was den Beobachtungen von BILLING und CUTHBERT (1958) entspricht. Da dieser Sporenbildner allerdings in der Lage ist, sich auf den Oberflächen der Melkgerätschaften zu vermehren und von dort aus die Milch zu kontaminieren (siehe 2.1.2), sagt dies wenig über die Belastung der Milch nach ihrer maschinellen Gewinnung aus.

Für den zweiten Versuchsabschnitt, in dem die Auswirkung der Zitzendesinfektion auf den Sporengehalt der Milch als Teil eines Euterhygieneprogrammes geprüft werden sollte, wurden zehn von ihrer Betriebsstruktur und -hygiene ähnliche Bestände ausgewählt. Fünf dieser Betriebe führten das einleitend erwähnte Euterhygieneprogramm durch, die anderen fünf unterließen sowohl vor als auch nach dem Melken euterhygienische Maßnahmen. Die eine Hälfte der Probenahmen erfolgte während der Zeit des Weidegangs, die andere in der Stallperi-

ode. Auf die Erfassung des Gesamtkeimgehaltes der Milch wurde in diesem Versuchsabschnitt verzichtet, da jeweils eine Untersuchung der Bestandmilch vorgenommen wurde und somit ein Einfluß der Melkgerätschaften auf die Höhe des Keimgehaltes nicht auszuschließen war.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse der Untersuchungen auf aerobe Sporenbildner während des Weidegangs in Abhängigkeit von der Durchführung des Euterhygieneprogrammes findet sich in Tab. 7. und Abb. 1. Wie bereits im Modellversuch konnte auch unter Praxisbedingungen bei Anwendung des Euterhygieneprogrammes stets ein niedrigerer Sporengehalt registriert werden. Dies gilt ebenfalls für die während der Stallperiode durchgeführten Untersuchungen (Tab. 8). Vergleicht man die in Tab. 7 und 8 zusammengestellten Resultate, so fällt auf, daß die Sporenzahlen in der Stallperiode deutlich über den zur Zeit des Weidegangs lagen. Die Mittelwerte aller Einzeluntersuchungen lagen bei Betrieben mit Euterhygieneprogramm in der Stallperiode bei 21,2/ml ($s = 17,3$) bzw. in den Vergleichsbetrieben bei 146,6/ml ($s = 75,2$). Bei Weidegang betrugen sie dagegen 66,9/ml ($s = 40,2$) und 11,2/ml ($s = 4,2$). Über ähnliche Beobachtungen berichten auch andere Autoren (BILLING und CUTHBERT, 1958; ABO-ELNAGA, 1968; WAES, 1976). Nach STADHOUDERS et al. (1982) sind die jahreszeitlichen Unterschiede auf die während der Stallfütterung höhere Kontamination mit Staub, Mist und Erde zurückzuführen.

B. cereus konnte bei Weidegang in den insgesamt 70 Untersuchungen 14 mal (Euterhygieneprogramm) bzw. 45 mal (kein Euterhygieneprogramm) qualitativ nachgewiesen werden. Die entsprechenden Werte während der Stallhaltung betrugen 30 und 63. Auch hier deutet sich zumin-

dest tendenziell ein günstiger Einfluß des Euterhygieneprogrammes an.

Auffällig war die Tatsache, daß *B. cereus* im Winter häufiger nachgewiesen werden konnte, als im Spätsommer und Herbst. Nach BILLING und CUTHBERT (1958) und LABOTS (1965) sollen aufgrund der rascheren Vermehrung des Keimes auf den Gerätschaftsoberflächen (STADHOUERS et al., 1982) die Zahlen im Sommer und Herbst höher liegen als im Winter. Da in den eigenen Versuchen *B. cereus* nicht quantifiziert wurde, sollten weitere Untersuchungen in diesem Zusammenhang durchgeführt werden.

Auch bei den anaeroben Sporenbildnern waren jahreszeitliche Unterschiede festzustellen (Tab. 9-11, Abb. 3-8) die allerdings bei Durchführung des Euterhygieneprogrammes weniger deutlich ausgeprägt waren. Bei den sulfitreduzierenden Sporenbildnern lagen die Zahlen während des Weideganges höher als in der Stallperiode. Dies entspricht den Beobachtungen von ABO-ELNAGA (1968). Die "laktatvergärenden Clostridien" bzw. *C. tyrobutyricum* verhielten sich umgekehrt (Tab. 11). Die stärkste Belastung der Milch mit *C. tyrobutyricum* zur Zeit der Stallfütterung mit Silage läßt sich durch die Anreicherung der Sporen aus den silierten Futtermitteln im Verdauungstrakt der Milchkühe bzw. den Fäzes und das damit verbundene höhere Kontaminationsrisiko über die Zitzenoberfläche erklären und entspricht auch den Erfahrungen anderer Autoren (WAES, 1987). Wie bereits im Modellversuch (Tab. 6) fällt auch hier auf, daß nur ein bestimmter Prozentsatz der in RCM-Laktat-Medium Gas produzierenden Sporenbildner im LATA-Medium als *C. tyrobutyricum* bestätigen werden konnten. Insgesamt ließen sich bei Weidegang nur sehr geringe Zahlen sowohl an "laktatvergärenden" Sporenbildnern als auch bei *C. tyrobutyricum* nachweisen (Tab. 9, Abb. 5 und 7

maximal 15 bzw. 9/10 ml). Bei Durchführung des Euterhygieneprogrammes sanken diese Zahlen noch weiter ab ("laktatvergärende" Sporenbildner) oder es waren grundsätzlich keine Sporen mehr nachweisbar (C. tyrobutyricum, Nachweisgrenze 3/10 ml). Während der Stallperiode (Tab. 10, Abb. 6 und 8) lagen die Werte beider Keimgruppen zwar etwas höher (maximal 250 bzw. 95/10 ml), doch ließen sich bei Durchführung des Euterhygieneprogrammes die Zahlen reduzieren (maximal 25 bzw. 9/10 ml).

Insgesamt gesehen läßt sich aus den Untersuchungsergebnissen sowohl für die aeroben als auch für die anaeroben Sporenbildner bei Anwendung des Euterhygieneprogrammes im Vergleich zu den Kontrollbetrieben eine Reduzierung der Keimzahlen ableiten. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß die Werte sehr stark gestreut sind, was sicherlich zum einen mit den unterschiedlichen Anstrengungen der Landwirte bei der konsequenten Durchführung der Hygienemaßnahmen zusammenhängt, zum anderen damit, daß der Sporengehalt der Rohmilch nicht ausschließlich von den Zitzen herrührt. Ausschlaggebend für die Effektivität des Euterhygieneprogrammes ist in jedem Fall das Engagement des Melkpersonals, wobei Zitzenreinigung und -desinfektion dergestalt erfolgen sollte, daß keine makroskopisch sichtbaren Schmutzpartikel mehr an den Zitzen anhaften.

Für die Zitzendesinfektion wurde (siehe Material und Methodik) das Präparat DESINFICIN-CL verwendet, welches als einziges für die Euterbehandlung vor dem Melken vom BGA zugelassen ist. Es sei an dieser Stelle nochmals darauf hingewiesen, daß im Schrifttum eine Reduzierung des Sporengehaltes (aerobe Sporenbildner) auch bei Reinigungsmaßnahmen ohne Desinfektionsmittelzusatz erzielt wurden (McKINNON, et

al. 1983). Dies zu prüfen war allerdings nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit. Die Rezeptur für das Präparat lautet nach Angaben des Herstellers folgendermaßen:

Tosylchloramid-Na x 3H ₂ O (Chloramin-T)	60%
Natriumbenzoat	34%
Poly (1-Vinyl-2-pyrolidon)	5%
Natriumlaurylsulfat	1%

Als Anwendungsbereich werden die Euterhygiene und Mastitisprophylaxe bei Kühen genannt. Die Anwendungskonzentration beträgt 0,5% = 3000mg Chloramin-T pro Liter.

Das in Wasser lösliche Chloramin-T dient nach WALL-HÄUSSER (1984) je nach Konzentration als geeignetes Antiseptikum u.a. zur Händedesinfektion und zur Trinkwasserentkeimung.

Im Zusammenhang mit der Rückstandsproblematik sei erwähnt, daß in der Anlieferungsmilch nach bestimmungsgemäßer Anwendung einer 0,5%igen Desinficin-Cl-Lösung zur Zitzenreinigung und Desinfektion keine meßbaren Rückstände im Bereich oberhalb 0,008 ppm Chloramin-T feststellbar sind (KLEINSCHROTH und DENEKE, 1987).

Ein wesentlicher Aspekt ist die Hautverträglichkeit des Desinfektionsmittels. Während des gesamten Untersuchungszeitraumes konnten bei den Tieren der Versuchsbetriebe keinerlei Zitzenirritationen bei Anwendung der Desinficin-Cl-Lösung festgestellt werden. Auch die Landwirte, die die Desinfektion morgens und abends durchführten, klagten bis auf einen Tierhalter, der an einer Allergie leidet, nicht über chloraminbedingte Beeinträchtigungen der Haut. Es wurde jedoch

immer wieder der unangenehme Chlorgeruch, der den Händen sehr lange anhaftet, bemängelt.

Ein weiterer wichtiger Gesichtspunkt ist die Kostenbelastung durch das Hygieneprogramm. Wenn man davon ausgeht, daß für die Zitzendesinfektion etwa 600 Abrisse Euterpapier und etwa 12 bis 15 Liter Desinficin-Cl-Lösung pro Jahr benötigt werden, ergibt dies eine Kostenbelastung von etwa DM 24,- pro Kuh und Jahr (GEDEK et al., 1987). Dabei muß allerdings berücksichtigt werden, daß in dieser Rechnung davon ausgegangen wird, daß pro Kuh und Melkzeit ein Papiertuch benötigt wird. Es wurde aber mehrmals von den Tierhaltern berichtet, daß bei grober Euterverschmutzung ein Papiertuch nicht ausreichend war, um die Zitzen von allen sichtbaren Schmutzresten zu befreien.

Wie die vorliegenden Untersuchungen zeigen, kann durch gewissenhafte Durchführung des Euterhygieneprogrammes der Sporengehalt in der Anlieferungsmilch vermindert werden, ohne daß größere nachteilige Effekte in Kauf genommen werden müssen. Es ist jedoch zu bedenken, daß die Durchführung der Hygienemaßnahmen ein Engagement des Tierhalters voraussetzt, das mit einem Mehraufwand an Arbeit und einer gewissen Kostenbelastung verbunden ist. Andererseits zeigt sich, daß sowohl der Gesamtkeimgehalt als auch der Gehalt an Sporenbildnern in der Anlieferungsmilch gesenkt werden kann. Hierzu kommt die wirkungsvolle Mastitisprophylaxe, ein Aspekt der nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit war. Die Klärung der Frage, ob die Reduzierung des Sporengehaltes ausreicht, um Schäden bei der Käseproduktion zu verhindern, müßte durch weitere Untersuchungen abgeklärt werden. In den am stärksten belasteten Milchproben der Versuchsbetriebe mit Euterhygieneprogramm wurden in der Stallperiode bei Silagefütterung immerhin noch 9 Sporen von *C. tyrobutyricum* pro 10 ml gefunden.

Nach Literaturangaben (FRYER und HALLIGAN, 1976; KLUPSCH, 1985; HEILMEIER, 1985) genügen aber bereits wenige Sporen pro Liter Milch, um die Qualität des Käses zu beeinträchtigen.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob und inwieweit bei Durchführung eines Euterhygieneprogrammes (Reinigung und Desinfektion der Zitzen vor und Desinfektion nach dem Melken) der Gehalt an Sporenbildnern in der Anlieferungsmilch gesenkt werden kann.

Zunächst wurde in einem Modellversuch in einem Milchtierbestand geprüft, ob durch die Zitzendesinfektion vor dem Melken die bakteriologische Beschaffenheit der Zitzenoberfläche verändert wird. Die Unterschiede zwischen derartig behandelten und unbehandelten Zitzen hinsichtlich der Gesamtkeimzahl betrugen etwa zwei Zehnerpotenzen. Der Gehalt an aeroben Sporenbildnern verminderte sich etwa um den Faktor 10, der an sulfitreduzierenden Sporenbildnern etwa um den Faktor 8. *Clostridium (C.) tyrobutyricum* konnte auf unbehandelten Zitzen nur vereinzelt, auf desinfizierten nie nachgewiesen werden.

Für den Hauptversuch wurden zehn landwirtschaftliche Betriebe ausgewählt, von denen fünf das Euterhygieneprogramm durchführten und fünf nicht (Vergleichsbetriebe). In den Bestandsmilchproben der Betriebe mit Hygieneprogramm war während des Weidegangs ein um den Faktor 6 verminderter Gehalt an sulfitreduzierenden Sporenbildnern zu registrieren. *C. tyrobutyricum* wurde in der Milch der Vergleichsbetriebe nur vereinzelt, bei den das Hygieneprogramm durchführenden nie nachgewiesen. In der Stallperiode lagen die Gehalte an aeroben Sporenbildnern höher als während des Weidegangs und in den Vergleichsbetrieben etwa siebenfach über denen der Betriebe mit Hygieneprogramm. Die Zahlen an sulfitreduzierenden Sporenbildnern verhielten sich jahreszeitlich gesehen umgekehrt, wurden aber durch

die Hygienemaßnahmen ebenfalls gesenkt. Die Gehalte an C. tyrobutyricum, die zur Zeit der Stallperiode höher als bei Weidegang waren, konnten bei Durchführung des Euterhygieneprogrammes um etwa den Faktor 5 reduziert werden.

6. Summary

Investigations on the reduction of numbers of bacterial spores in raw milk using an udder hygiene program

The use of a premilking disinfectant teat wash procedure combined with a postmilking teat dip as a means of reducing the population of sporeforming bacteria in raw milk was investigated.

In the first part of the experiments lactating cows of a dairy farm were divided into two groups. The teats of the the first group were washed with a disinfectant, the teats of the second group were not treated. Before milking, the teats were rinsed using UHT-milk. Comparing the numbers of aerobic mesophilic bacteria in UHT-milk from washed teats and control teats a hundredfold reduction could be observed. There was also a reduction in the number of aerobic sporeformers (tenfold) and sulfite reducing sporeformers (eightfold). *Clostridium (C.) tyrobutyricum* could be isolated sporadically in UHT-milk from untreated teats only.

The second part of the experiments ten dairy farms were selected. Five of these farms carried out the udder hygiene program mentioned above (pre- and postmilking treatment) whereas the other five dairy farms did not. The bacteriological quality of the bulk milk was subjected to seasonal fluctuations. Keeping the cows on grassland the number of aerobic sporeformers in bulk milk of farms without any treatment was tenfold, the number of sulfite reducing sporeformers sixfold higher than in bulk milk of farms practising hygienic measures. *C. tyrobutyricum* could only be found sporadically in milk from farms doing no pre-and postmilking treatment. Keeping the cows indoors aerobic spo-

reformers and *C. tyrobutyricum* reached higher counts whereas the number of sulfite reducing sporeformers was lower than at times of keeping the cows on grassland. The number of all three groups of sporeformers were reduced in the bulk milk of farms using the udder hygiene program.

7. Literaturverzeichnis

ABO-ELNAGA, I.G. (1968):

Sporenbildner in der Anlieferungsmilch

Milchwissensch. 23, 559-560

BARKLEY, M.B. und P. DELANEY (1980):

An occurrence of bitty cream in Australian pasteurized milk

Neth. Milk Dairy J. 34, 191-198

BECKER, H. und G. TERPLAN (1987):

Staphylococcus aureus und Bacillus cereus in Milchprodukten

Dtsch. Molkerei-Ztg. 108, 1594-1602

BECKER, H., T.A. EL-BASSIONY und G. TERPLAN (1984):

Zum Vorkommen von Bacillus cereus und anderen pathogenen Mikroorganismen in Säuglings- und Kindernahrung

Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B 179, 198-216

BILLING, E. und W. CUTHBERT (1958):

The occurrence and significance of Bacillus cereus spores in raw milk supplies

J. appl. Bact. 21, 65-78

BROWN, R.W. und R.K. SCHERER (1957):

A report on two cases of acute mastitis caused by Bacillus cereus

Cornell Vet. 47, 226-240

BRUCKMAYER, R. (1978):

Zum Einfluß eines Mastitisprophylaxeprogrammes auf
Eutergesundheit und Wirtschaftlichkeit der Milchtier-
haltung

Diss. med. vet. München

BUSSE, M. und J. HEILMEIER (1986):

Der Nachweis käserreischädlicher Clostridien

Dtsch. Molkerei- Ztg. 107, 332-334

CATO, E.P., W.L. GEORGE und S.M. FINEGOLD (1986):

Genus Clostridium

In: SNEATH, P.H.A., N.S. MAIR, M.L. SHARPE und J.G.
HOLT:

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1. Aufl.
Bd. 2, p. 1141-2007

Williams and Wilkins, Baltimore, London

DAVIES, F.L. (1977):

The role of various milk fractions and the importance
of somatic cells in the formation of germinant for
Bacillus cereus when milk is pasteurized

J. Dairy Res. 44, 555-568

DAVIES, F.L. und G. WILKINSON (1973):

Bacillus cereus in milk and dairy products

XIX. Int. Milchwirtschaftskongreß, Neu Delhi,

Bd. 3, 57-67

DIESELBEN (1974):

Einfluß der Hitzebehandlung der Milch auf das Auskeimen von *Bacillus cereus* Sporen

XIX. Int. Milchwirtschaftskongreß, Neu Delhi,

Bd. 6, 407-408

DEMETER, K. (1967):

Bakteriologische Untersuchungsmethoden der Milchwirtschaft, p.127

Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart

DENEKE, J. (1972):

Zum Einfluß der Zitzendesinfektion und sonstiger prophylaktischer Maßnahmen auf die Eutergesundheit

Diss. med. vet. München

DENEKE, J. und E. KLEINSCHROTH (1976):

Hygienische Maßnahmen im Rahmen der Bekämpfung der Rindermastitis

Züchtungskunde 48, 183-193

DONOVAN, K. (1959):

The occurrence of *Bacillus cereus* in milk and on dairy equipment

J. appl. Bact. 22, 131-137

DRIESSEN, F.M. und J. STADHOUDERS (1980):

(A new defect in stirred yoghurt)

Zuivelzucht 72, 754

ref. in: Dairy Sci.Abstr. 43, (1981) 121, Nr. 935

EWALD, C., A. HEER, L. HEUKING, und G. MOLL (1985):
Mastitiden durch *Bacillus cereus* bei medikamentell
trockengestellten Milchkühen.
Prakt. Tierarzt 66, 1025-1028

FRANKLIN, J.G., D. WILLIAMS und L. CLEGG (1956):
A survey of the number and types of aerobic mesophilic
spores in milk before and after commercial steriliza-
tion
J. appl. Bact. 19, 46-53

FRYER, T.F. und A.C., HALLIGAN (1976):
The detection of *Clostridium tyrobutyricum* in milk
N.Z.J. Dairy Sci. Technol. 11, 132

GALESLOOT, T.E. (1960):
Effect of oxidizing salts upon the oxidation - reduc-
tion potential of milk inoculated with starter
Neth. Milk Dairy J. 14, 176-214

DERSELBE (1961):
(Nitrate as a means of controlling butyric acid
fermentation in Gouda and Edam cheese)
Misset's Zuivel 67, 616-617, 619
ref. in: Dairy Sci. Abstr. 24, (1962) 74, Nr. 342

GALESLOOT, T.E. und F. HASSING (1983):
Effect of nitrate and chlorate and mixtures of these
salts on the growth of coliform bacteria. Results of
model experiments related to gas defects in cheese
Neth. Milk Dairy J. 37, 1-10

GALTON, D.M., L.G. PETERSSON und W.G. MERRILL (1984):
Effects of premilking udder preparation practices on
bacterial counts in milk and on teats

J. Dairy Sci. 69, 260-266

GALTON, D.M., R.W. ADKINSON, C.V. THOMAS und T.W.
SMITH (1982):

Effects of premilking udder preparation on environmen-
tal bacterial contamination of milk

J. Dairy Sci. 65, 1540-1543

GEDEK, W. (1986):

Bacillus cereus Mastitiden beim Rind als Folge einer
Arzneimittel-Intoxikation

Tierärztl. Umsch. 41, 526-530

GEDEK, W., E. KLEINSCHROTH und J. DENEKE (1987):

Subklinische Mastitis

VET 2, (6) 6-8, (12) 28-33

GILBERT, R.J. (1979):

Bacillus cereus gastroenteritis

in: RIEMAN, H. und F.L. BRYAN:

Foodborne infections and intoxications, p. 495-518

Academic Press, London, New York, San Francisco

GILBERT, R.J. und A.J. TAYLOR (1976):
Bacillus cereus food poisoning
in: SKINNER, F.A. und J.G. CARR:
Microbiology in agriculture, fisheries and food,
p. 197-213
Academic Press, London, New York, San Francisco

GILBERT, R.J., P.C.B. TURNBULL, M. PARRY und J.M. KRAMER (1981):
The aerobic endospore-forming bacteria. Classification
and identification, p. 300-314
Academic Press Spec. Publ., London

GLOOR, H. (1968)
Die Cereus-Mastitis des Rindes
Schweiz. Arch. Tierheilk. 110, 63-80

GOEPFERT, J.M., W.M. SPIRA und H.U. KIM (1972):
Bacillus cereus: food poisoning organism. A review
J. Milk Food Technol. 35, 213-227

GOLDBACH, W. (1964):
Nachweis eines Wachstumsheimmfaktors für Bac cereus in
Milch
ref. in: Ernährungsforsch. 9, 324

GROSSKOPF, J.C. und W.J. HARPER (1969):
Role of psychrophilic sporeformers in long life milk
J. Dairy Sci. 52, 897

DIESELBEN (1974):

Isolation and identification of psychrotrophic spore-formers in milk

Milchwissensch. 29, 467-470

HALLIGAN, A.C. und T.F. FRYER (1976):

The development of a method for detecting spores of *Clostridium tyrobutyricum* in milk

N.Z.J. Dairy Sci. Technol. 11, 100-106

HARPER, W., E. HIDALGO und E. MIKOLAJCIK (1970):

Bacillus cereus-Protease als ein Faktor bei der Gelbildung in sterilisierten Milchprodukten

X. Internationaler Milchwirtschaftskongreß, Sidney, Bd. 1, 192

HEER, A., C. EWALD, L. HEUKING und G. MOLL (1987):

Mastitiden durch *Bacillus cereus* bei medikamentell trockengestellten Milchkühen

Prakt. Tierarzt 68, 43-44

HEIDRICH, H.J., P. GROSSKLAUS und M. MÜLLING (1964a):

Vergleichende bakteriologische Untersuchungen an durch Handmelken und durch Venülenpunktion der Drüsenzisterne gewonnenen Milch. I. Untersuchungen an Venülenmilchen

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 77, 83-84

HEIDRICH, H.J., M. MÜLLING und H.W. BIRKNER (1964b):
Vergleichende bakteriologische Untersuchungen durch
Handmelken und durch Venülenpunktion der Drüsenzisternen
gewonnenen Milch. II. Vergleichende
Untersuchungen an Handmelk- und Venülmilchen
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr 77, 85-87

HEILMEIER, J. (1985):
Der Nachweis von käsereischädlichen Clostridien
Dtsch. Molkerei-Ztg. 106, 196-198

HÖFNER, J. (1987):
Neuere Erkenntnisse aus Forschung und Praxis zur Untersuchung der Käse-
reimilch auf anaerobe Sporenbildner
Dtsch. Molkerei-Ztg. 108, 1230-1237

HUTCHINSON, E.M.S. und J. TAPLIN (1979):
Bacillus cereus in food
Food Technol. Austr. 8, 329-333

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF) (1983):
Proposed IDF statements in relation to tentative description of Bacillus cereus
B-Doc: 106

JASPER, D.E., R.B. BUSHNELL, J.D. DELLINGER und A.M. STANG (1972):
Bovine mastitis due to Bacillus cereus
J.Am.Vet.Med.Assoc. 160, 750-756

JAKSCH, P. (1983):

Der Limulus-Test zur Bewertung der hygienischen Qualität von Milch und Milchprodukten insbesondere im Hinblick auf Haltbarkeit und Weiterverarbeitung der Milch
Diss. med. vet. München

JAYNE-WILLIAMS, D.I. und J.G. FRANKLIN (1960):

Bacillus spores in milk - part I

Dairy Sci. Abstr. 22, 215-221

JORGENSEN, K. (1981):

The microflora of the udder: interior and surface

Kieler Milchwirtsch. Forsch. 33, 289-297

JOHNSON, K.M. (1984)

Bacillus cereus foodborne illness - an update

J. Food Prot. 47, 145-153

JOHNSTON, D.W. und J. BRUCE (1982):

Incidence of thermophilic psychrotrophs in milk produced in the west of Scotland

J. appl. Bact. 52, 333-337

JONES, T.O. und P.C. B TURNBULL (1981):

Bovine mastitis caused by Bacillus cereus

Vet. Rec. 108, 272-274

KÄSTLI, P. (1963):

Milchkunde u. Milchhygiene, II. Teil: Milchfehler,
p. 40, 2. Aufl.

Verlag Verbandsdruckerei, Bern

KIELWEIN, G. (1966):

Untersuchungen und Gedanken zur Qualität der Rohmilch
Arch. Lebensmittelhyg. 17, 269-272

KLEINSCHROTH, E. und J. DENEKE (1987):

Hygieneprogramm für Milcherzeuger

VET 2, (2) 12-17

KLEINSCHROTH, E., K. RABOLD und J. DENEKE (1985):

Mastitis

Top agrar - extra, 89

KLOSTERMEYER, H. (1986)

Was ist Lysozym - wie wird es getestet

Dtsch. Molkerei-Ztg. 107, 334-336

KLUPSCH, H.J. (1985):

Die Interlab-Tagung in Thiene/Italien

BATTISTOTTI, B.:

Probleme der analytischen Bestimmung anaerober
Sporenbildner (Clostridien) in Milch

Dtsch. Milchwissensch. 36, 896-897

KOHLER, R. (1982):

Untersuchungen zum Vorkommen und zur Bildung flüchtiger Nitrosamine in Milch und Milchprodukten, speziell in Weichkäse und Joghurt
Diss. med. vet. München

KRISTENSEN, K.K. (1981):

(Bacillus cereus Lebensmittelvergiftung)
Dansk Veterinaertidsskr. 64, 766-768
ref. in: Dairy Sci. Abstr. 45, (1983) 582, Nr. 5601

KRUSCH, U. und D. PROKOPEK (1986):

Herstellung von Schnittkäse mit Lysozym
Dtsch. Molkerei-Ztg. 107, 338-341

KUERSTEINER, J. (1918):

Ist die Milch aus Ställen, in welchen Kühen konserviertes Gras verabreicht wird, für die Herstellung von Emmentaler-Käse tauglich
Schweiz. Milchztg. 44, 57-61

KUTZNER, H.J. (1963):

Untersuchungen an Clostridien mit besonderer Berücksichtigung der für die Milchwirtschaft wichtigen Arten
Zbl. Bakt. I Abt. Orig. 191, 441-450

LABOTS, H. und T.E. GALESLOOT (1959):

(Formation of cream particles in pasteurized milk)
Neth. Milk Dairy J. 13, 79-99
ref. in: Dairy Sci. Abstr. 22, (1960), 252-253,
Nr. 1374

LABOTS, H. und G. HUP (1964a):

(*Bacillus cereus* in raw and pasteurized milk, I.)

Neth. Milk Dairy J. 18, 112-126

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 26, 535, Nr. 3307

DIESELBEN (1964b):

(*Bacillus cereus* in raw and pasteurized milk, II.)

Neth. Milk Dairy J. 18, 112-126

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 27, 173, Nr. 1197

LABOTS, H., G. HUP und T. GALESLOOT (1965):

(*Bacillus cereus* in raw and pasteurized milk, III.)

Neth. Milk Dairy J. 19, 191-216

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 28, 426, Nr. 2486

LANGEVELD, L.P.M. und F. CUPERUS (1980):

The relation between temperature and growth rate in pasteurized milk of different types of bacteria which are important to the deterioration of that milk

Neth. Milk Dairy J. 34, 106-125

LEMBKE F., U. KRUSCH, D. PROKOPEK, G. RATHJEN, und M. TEUBER (1984):

Verwendung von Entkeimungszentrifugen zur Senkung des Nitratzusatzes in der Schnittkäseherstellung.

Kieler Milchwirtsch. Forsch. 36, 31-61

MARTIN, J.H. (1974):

Significance of bacterial spores in milk

J. Milk Food Technol. 37, 94-98

DERSELBE (1981):

Heat resistant mesophilic microorganisms

J. Dairy Sci. 64, 149-156

McKINNON, C.H., R.J. FULFORD und C.M. COUSINS (1983):

Effect of teat washing on the bacteriological contamination of milk from cows kept under various housing conditions

J. Dairy Res. 50, 153-162

MROZEK, H. (1975):

Rohmilchqualität als Ergebnis der Behandlung der Melkanlagen

Dtsch.Molkerei-Ztg. 96, 258-261

NEUMEISTER, E. und A. KARIM (1970):

Ein Beitrag zur Mastitisprophylaxe mit dem Desinfektionsmittel Gevisol

Wiener Tierärztl. Mschr. 57, 371-372

OLSON, J.C. (1962):

Hygienic aspects of milk and payment for quality

J. Milk Food Technol. 25, 355-361

O'SHEA, J. (1985):

Zur Bedeutung der Melkmaschine bei der Verbreitung von Mastitisserregern und praktische Vorbeugemaßnahmen

Kieler Milchwirtsch. Forsch. 37, 390-397

OVERCAST, W.W. und K. ATMARAM (1974):

The role of *Bacillus cereus* in sweet curdling of fluid milk

J. Milk Food Technol. 37, 233-236

PERRIN, D., J. GREENFIELD und G.E. WARD (1976):

Acute *Bacillus cereus* mastitis in dairy cattle associated with use of a contaminated antibiotic

Can. vet. J. 17, 244-247

RABOLD, K., W. SCHMIERER und H. GRIMM (1985):

Hygienemaßnahmen direkt beim Melken bringt mehr Milchgeld

Milchpraxis 23, 121-123

RICHARD, J. (1978):

Von der Oberfläche des Euters verursachte mikrobielle Infektion der Kuhmilch

XX. Internationaler Milchwirtschaftskongreß, Paris, Kurzmitteilungen Bd. 2, 99-100

ROSENBERGER, R.F. (1951):

The development of methods for the study of obligate anaerobes in silage

Proc. Soc. Appl. Bact. 14, 161-164

SCHIEFER, B., K.R. MacDONALD, G.G. KLAVANO und A. DREUMEL (1976):

Pathology of *Bacillus cereus* mastitis in dairy cows

Can. vet. J. 17, 239-247

SCHMITT, N., E.J. BOWMER und B.A. WILLOUGHBY (1976):
Food poisoning outbreak attributed of *Bacillus cereus*
Can. J. Publ. Hlth. 67, 418-422

SCHÖNBERG, F. (1951):
Zur Bedeutung der Euter- und Zitzenreinigung für die
Gewinnung keimarmer Trinkmilch, insbesondere Vorzugs-
milch
Lebensmitteltierarzt 2, 106-110

SEELEMANN, M., A. MEYER und I. KNOLLE (1962):
Zur Frage der praktischen Anwendung von Reinigungs-
und Desinfektionsmaßnahmen als Mittel zur Verhütung
vermeidbarer Milch- und Euterinfektionen
Kieler Milchwirtsch. Forsch. 14, 65-81; 211-228

SHELDRAKE, R.F. und R.J.T. HOARE (1980):
Effect of a disinfectant udder wash and a postmilking
teat dip on the bacterial population of the teat end
and on the rate of new intramammary infection
J. Dairy Res. 47, 253-258

DIESELBEN (1982):
Role of pre-milking teat skin disinfection in preven-
ting *Staphylococcus aureus* mastitis
J. Dairy Res. 50, 101-105

SILLEN, G. (1986):
Moderne Bactofugen im Dienste der Molkereiindustrie
Dtsch. Molkerei-Ztg. 107, 826-833

SNEATH, H.A. (1976):

Endospore-forming gram positive rods and cocci
in: SNEATH, H.A., N.S. MAIR, M. SHARP und J.G. HOLT:
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology,
1. Aufl., Bd. 2, p. 1104-2007
Williams and Wilkins, Baltimore, London

STADHOUDERS, J., G. HUP und L.P.M. LANGEVELD (1980):
Some observations on the germination, heat resistance
and outgrowth of fast-germinating and slow-germinating
spores of *Bacillus cereus* in pasteurized milk
Neth. Milk Dairy J. 34, 215-228

STADHOUDERS, J., G. HUP und F. HASSING (1982):
The conceptions index and indicator organisms discus-
sed on the basis of the bacteriology of spray-dried
milk powder
Neth. Milk. Dairy J. 36, 231-260

STADHOUDERS, J., G. HUP und F.F.J. NIEUVENHOF (1985):
Silage and cheese quality
NIZO-Medelingen 191, 25-34

STEINERT, J. (1978):
Milchhygieneregeln im Rahmen der Bundeseinheitli-
chen Lebensmittelhygiene-Verordnung
Welt der Milch 31, 653-668

STONE, M.J. (1952a):

The effect of temperature on the development of broken cream

J. Dairy Res. 19, 302-310

DERSELBE (1952b):

The action of the lecithinase of *Bacillus cereus* on the globule membrane of milk fat

J. Dairy Res. 19, 311-315

STONE, M.J. und A. ROWLANDS (1952):

Broken or bitty cream in raw and pasteurized milk

J. Dairy Res. 19, 51-61

TERPLAN, G. (1957):

Saprophyten als Mastitiserreger

Arch. Lebensmittelhyg. 8, 37-38

TERPLAN, G. und H. GROVE (1979):

Die Rindermastitis als veterinärmedizinisches, wirtschaftliches und lebensmittelhygienisches Problem

Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. B. 168, 97-108

TERPLAN, G. und H.U. WIESNER (1971):

Zur Beurteilung von Kuhställen im Hinblick auf die Hygiene der Milchgewinnung

Arch. Lebensmittelhyg. 22, 158-159

DIESELBEN (1976):

Zur rechtlichen Beurteilung der Zitzendesinfektion

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 89, 41-45

TERPLAN, G., J. DENEKE, H.H. GROVE, E. HALLERMAYER und
J. MEYER (1975):

Zur Ermittlung und Bedeutung von Rückständen in der
Milch nach Anwendung jod- und chlorhaltiger Mittel zur
Zitzendesinfektion

Arch. Lebensmittelhyg. 26, 180-185

TEUBER, M. (1986):

Verhalten von Lysozym in der Käserei

Dtsch. Molkerei-Ztg. 107, 337-338

TOLLE, A. und W.G. WITTLESTONE (1976):

Grundlagen der Hygiene der Milchgewinnung

Kieler Milchwirtsch. Forsch. 28, 81-224

VAN BEYNUM, J. und J.W. PETTE (1935):

Zuckervergärende und laktatvergärende Buttersäure-
bakterien

Zbl. Bakt. Hyg. II Abt. Orig. 93, 198-212

VLAD, A und A. VLAD (1972):

(Food poisoning due to *Bacillus cereus*)

Microbiol. Parazit. Epidem. Nr. 6, 531-536

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 35, (1973), 123, Nr. 1226

WAES, G. (1976):

Aerobic mesophilic spores in raw milk

Milchwissensch. 31, 521-525

DERSELBE (1987):

Butyric acid bacteria in milk and silage

Rev. l'Agricult. 40, 949-956

WALLHÄUSSER, K.H. (1984):

Praxis der Sterilisation, Desinfektion - Konservierung
- Keimidentifizierung - Betriebshygiene, 2. Aufl., p.
87-89

Georg Thieme Verlag, Stuttgart

WASSERFALL, F. (1976):

Kann auf Nitrat bei der Herstellung von Käses verzichtet werden

Dtsch. Molkerei-Ztg. 97, 677-679

DERSELBE (1978):

Grundlage der Lysozym-Wirkung bei der Herstellung von
Schnittkäse

Milchwissensch. 33, 91-97

WEIDLICH, N. (1961):

Über Infektionen der Milchdrüse des Rindes mit *Bacillus cereus*

Mh. Vet. Med. 16, 816-818

WILKINSON, G. und F.L. DAVIES (1973a):

Some aspects of the germination of *Bacillus cereus* in milk

in: BARKER, A.N., G.W. GOULD und J. WOLF:

Spore Research, p. 153-158

Academic Press, London

DIESELBEN (1973b):

Germination of spores of *Bacillus cereus* in milk and milk dialysates: effect of heat treatment

J. appl. Bact. 36, 485-496

WINTERER, D. (1978):

Einfluß der Kühlung auf die Rohmilchqualität

Dtsch. Milchwirtsch. 29, 1527

Abschließend möchte ich Herrn Prof. Dr. G. Terplan für die Überlassung des Themas, sowie für die Anregungen zur Durchführung der Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt dem Tiergesundheitsdienst Bayern e.V., speziell Herrn Dr. E. Kleinschroth und den Mitarbeitern der Geschäftsstelle Schwaben-Süd, Kempten, für die Ermöglichung der Durchführung der bakteriologischen Untersuchungen und die stetige Unterstützung und Hilfsbereitschaft.

Bei Herrn Dr. H. Becker bedanke ich mich für seine stetige Hilfe und fachliche Beratung.

Danken möchte ich auch der Firma Gerhard Ruff, Memmingen für die Überlassung des Untersuchungsmaterials.

Dankend erwähnen möchte ich ferner meine Schwägerin und meinen Schwager Petra und Manfred Pachonik für die Hilfe bei den Schreibarbeiten, sowie meinen ehemaligen Mathematiklehrer Herrn Oberstudiendirektor Karl Weinhardt, der mir bei der Darstellung der Ergebnisse und der Gestaltung der Abbildungen und Tabellen behilflich war.

Nicht zuletzt möchte ich auch den Landwirten danken, ohne deren Mitarbeit die Versuche dieser Arbeit nicht durchführbar gewesen wären.

Lebenslauf

Am 27. April 1959 wurde ich als Sohn des Tierarztes Emil Kufner und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Schilling in Marktoberdorf/Allgäu geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule trat ich im Herbst 1969 in das mathematisch- naturwissenschaftliche Gymnasium in Marktoberdorf ein, wo ich im Juni 1978 die Hochschulreife erwarb.

Nach dem abgeleisteten Wehrdienst begann ich im Wintersemester 1979 mit dem Studium der Biologie an der Universität München. Im Sommersemester 1981 wechselte ich an die Tiermedizinische Fakultät, wo ich im November 1985 die tierärztliche Prüfung ablegte.

Seit Januar 1986 bin ich Doktorand am Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Milch der Universität München.

Am 1. Januar 1987 erfolgte meine Niederlassung als praktizierender Tierarzt in Marktoberdorf, wo ich die Großtierpraxis meines verstorbenen Vaters weiterführe.

